PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

E. BÜNNING-TÜBINGEN, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK,
R. HARDER-GÖTTINGEN, **W. SCHUMACHER**-BONN, **G. TISCHLER**-KIEL

HERAUSGEGEBEN VON

WILHELM RUHLAND UND **OTTO RENNER**

44. BAND, 5. HEFT

MIT 46 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 26. NOVEMBER 1954)

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1954

Planta (Berl.)

Preis DM 22.60

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik.

Begründet 1925. Herausgegeben von *W. Ruhland, H. Winkler.* Berlin, Springer. Bis Band 21 als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie, Abteilung E: Planta".

Die Zeitschrift **„Planta"**, Archiv für wissenschaftliche Botanik steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald als möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä., von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Wilhelm Ruhland, (14a) *Unterdeufstetten über Crailsheim,* oder an *Professor Dr. Otto Renner,* (13b) *München 38, Botanische Staatsanstalten, Menzinger Straße 67.*

Springer-Verlag

Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 24, Fernsprecher 2440

Vertriebsvertretung im Ausland:

Lange, Maxwell & Springer Ltd., 242 Marylebone Road, London N.W. 1

---

44. Band. **Inhaltsverzeichnis.** 5. Heft

Seite

Franke, W., Über die Biosynthese des Vitamins C. I. Mitteilung. Die Beziehungen zwischen Vitamin C und der Atmung. Mit 9 Textabbildungen . 437

Engel, H., u. I. Friederichsen, Periodische Guttation bei *Zea mays.* Mit 15 Textabbildungen 459

Wulff, H. D., Cytologische Untersuchungen an einer fertilen triploiden Rose. Mit 4 Textabbildungen 472

Schwarze, P., Beziehungen zwischen Peroxydasereaktion, Eiweiß-Spiegel und Chlorophyllbildung. Mit 1 Textabbildung 491

Kaja, H., Untersuchungen über die Plastiden in den Epidermiszellen von *Spinacia oleracea* L. Mit 3 Textabbildungen 503

Tschermak-Woess, E., Über die Phasen der Endomitose, Herkunft und Verhalten der „nuclealen Körper" und Beobachtungen zur karyologischen Anatomie von *Sauromatum guttatum.* Mit 10 Textabbildungen 509

Eschrich, W., Ein Beitrag zur Kenntnis der Kallose. Mit 4 Textabbildungen . 532

Planta, Bd. 44, S. 437—458 (1954).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Heidelberg.

ÜBER DIE BIOSYNTHESE DES VITAMINS C.

I. Mitteilung.

DIE BEZIEHUNGEN ZWISCHEN VITAMIN C UND DER ATMUNG.

Von

WOLFGANG FRANKE.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Juni 1954.)

Einleitung.

Das Vitamin C läßt sich allgemein in höheren, aber auch in vielen niederen Pflanzen als Inhaltsstoff der Zellen nachweisen. Die Frage nach der Art und dem Ort seiner Bildung im pflanzlichen Organismus ist jedoch bis heute noch nicht schlüssig beantwortet worden. Die unterschiedliche Verteilung des Vitamins C in den Pflanzen, insbesondere die relativ starke Anreicherung in grünen Organen wie den Blättern, veranlaßte einige Autoren zu der Annahme, daß die Bildung des Vitamins mit der Photosynthese ursächlich verbunden sei (NEUBAUER 1939; BUKATSCH 1939/40, 1940/41; MOLDTMANN 1939/40). DISCHENDORFER (1937) bezeichnet das Vitamin sogar als ein direktes Assimilat, das in oder an den Chloroplasten bei der CO_2-Assimilation entstünde. Durch den Assimilatstrom soll dieses autochthone Vitamin C sodann in die chlorophyllfreien Organe wie Rinden, Knollen, Wurzeln und Früchte gelangen (POPOVSKAJA 1950, HAGEN 1953) und als allochthones Produkt eingelagert oder verwendet werden.

Freilich kann eine Bildung durch photosynthetische Vorgänge dann nicht zutreffen, wenn z. B. in keimenden Samen eine Erhöhung des Vitamin C-Gehaltes ermittelt worden ist, noch ehe die Keimlinge die Photosynthese aufgenommen haben (KING 1936, MOLDTMANN 1939/40, K. und M. WEISSENBÖCK 1940, BARRENSCHEEN 1941, ROBERTSON 1947). Auch in chlorophyllfreien Organen wie Knollen, Zwiebeln und Sprossen (z. B. Spargel) kann zu Beginn des Austreibens von Augen oder Knospen oder des Schossens eine erhebliche Zunahme an Vitamin C beobachtet werden (PETT 1936, WEBER 1940), ohne daß eine direkte Beziehung zu grünen Organen besteht. Weiterhin ist nach mechanischen Verletzungen nicht nur an Blättern, sondern auch an Knollen, Zwiebeln und Sprossen eine auffallende Erhöhung des Vitamin C-Gehaltes festgestellt worden (GUTHRIE 1937, MEDAWARA 1950, WINTER 1952a), die einen Zusammenhang mit der Photosynthese oder eine Zuleitung von Vitamin C durch Stofftransport ausschließt.

In solchen Fällen hat man die erhöhte Bildung allgemein mit der physiologischen Aktivität der Gewebe, etwas spezifischer mit der erhöhten Atmung in Verbindung gebracht (STEWART und PRESTON 1940). Dabei blieb allerdings die Frage offen, was Ursache und was Wirkung ist, ob etwa die Erhöhung des Vitamin C-Gehaltes der Atmungssteigerung vorausgeht oder umgekehrt.

Zur Lösung dieser Frage muß eine eventuelle Funktion des Vitamins bei der Atmung erörtert werden. Denn wenn das Vitamin die Atmung stimulierte oder sich als Wasserstoffüberträger in den Atmungsprozeß einreihte, so bliebe die Ursache der Bildung des Vitamins C dennoch ungeklärt. Wenn aber die Atmung kausal an der Vitaminbildung beteiligt wäre, so stünde diese Erklärung der Biosynthese im Gegensatz zu der Ansicht, daß das Vitamin C in Abhängigkeit von der Photosynthese gebildet würde.

Bevor eine Entscheidung über die Gültigkeit eines der beiden möglichen Wege der Vitamin C-Biosynthese (Atmung oder Photosynthese) getroffen werden kann, muß daher zunächst untersucht werden, welcher Art die Beziehungen zwischen Vitamin C und Atmung sind. Darüber berichtet der erste Teil dieser Arbeit. Im zweiten Teil soll dann die Biosynthese des Vitamins C abgehandelt werden.

Vorbemerkungen.

Der Gesamtvitamin C-Gehalt wird im folgenden mit VC abgekürzt. Seine beiden antiskorbutischen Komponenten Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure werden mit AS und DAS bezeichnet. Sie stellen bekanntlich ein Reduktions-Oxydationssystem dar und können im Organismus offensichtlich reversibel ineinander übergehen. Bei der Bestimmung des Vitamin C-Gehaltes müssen daher AS *und* DAS gemessen werden, selbst wenn die Erfahrung lehrt, daß die DAS meist (aber nicht immer) nur in unbedeutender Menge vorhanden ist. Das Frischgewicht wird mit FG, das Trockengewicht mit TG abgekürzt.

Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Vitamin C und Atmung.

Um die Beziehungen zwischen VC und Atmung zu prüfen und dabei eine etwaige Korrelation zur Photosynthese auszuschließen, muß der Lichtzutritt verhindert oder aber von chlorophyllfreien Organen und Pflanzen ausgegangen werden. In den vorliegenden Versuchen wurde daher eine vergleichende Bestimmung der Atmungsintensität und des VC-Gehaltes an im Dunklen keimenden Samen und an verletzten Geweben von Kartoffeln, Zwiebeln und Spargelsprossen vorgenommen.

1. Methodik.

Die *Atmung* wurde mit Hilfe des Ultrarot-Absorptionsschreibers (URAS) als CO_2-Ausscheidung kontinuierlich gemessen, wobei die atmenden Objekte in einer Atmungskammer untergebracht wurden. Die Einzelheiten der Methodik sind die

gleichen, die FRANKE (1953) beschrieben hat. Eine gleichzeitige Bestimmung des O_2-Verbrauches mit einem Zusatzgerät zum URAS ist bisher noch nicht befriedigend möglich.

Der *VC-Gehalt* wurde titrimetrisch nach der Methode von TILLMANS, EMMERIE und VAN EEKELEN erfaßt (SEYBOLD und MEHNER 1948, FRANKE 1954).

2. *Versuche und Ergebnisse.*

a) Atmung und VC-Gehalt von keimenden Samen von Sinapis alba. Die Zunahme des VC-Gehaltes während der Keimung von Samen ist schon mehrfach ermittelt worden. Es ist auch bekannt, daß die Atmung während der Keimung ansteigt (vgl. FRANKE 1953). Um nun eine Beziehung zwischen beiden Vorgängen aufzudecken, müssen beide Untersuchungen am gleichen Objekt miteinander verknüpft werden. Dazu wurden die Samen von *Sinapis alba* (Handelssaatgut) in großen Glasschalen ausgesät und mit Leitungswasser im Dunklen bei 25° C zum Keimen gebracht. Nach 24 Std wurden gleich weit entwickelte Keimlinge (die Radicula trat etwa 1 mm aus der Mikropyle heraus) in große Petrischalen auf angefeuchtetes Filtrierpapier übertragen und alle 24 Std der VC-Gehalt, berechnet in Milligramm je 50 Individuen, bis zur 192. Std bestimmt. Parallel dazu wurden je 50 oder 25 Individuen in die Atmungskammer der Atmungsapparatur gebracht und die CO_2-Ausscheidung über die entsprechende Zeit hinweg kontinuierlich gemessen. Die Atmungswerte stellen die absoluten Beträge in Milligramm CO_2 je 50 Individuen und Stunde dar.

Eine eindeutige Aussage über die Veränderungen des VC-Gehaltes kann nur dann gefunden werden, wenn die Bezugsgröße konstant ist. Wenn, wie im allgemeinen üblich, das TG oder das FG dafür herangezogen wird, so müssen sich bei Keimlingen, die in verschiedenen Entwicklungszuständen untersucht werden, verzerrte Werte ergeben. Denn das TG nimmt im Verlaufe der Entwicklung im Dunklen infolge der Veratmung von Substanz ab, das FG aber verändert sich dank der reichlichen Wasseraufnahme so stark, daß beim Bezug darauf die Werte relativ immer kleiner werden. Deshalb wurde die physiologisch allein richtige Bezugsgröße, nämlich das Individuum, gewählt. Wenn GLICK (1937) und MOLDTMANN (1939/40) z. B. nach einem anfänglichen Ansteigen des AS-Gehaltes (bei *Ricinus* und *Pisum* bzw. Gerste) ein Absinken beobachteten, das erst nach dem Ergrünen der oberirdischen Teile sich wieder in eine Zunahme wandelte, so ist das darauf zurückzuführen, daß sie das FG als Bezugsgröße verwendeten. Eine entsprechende Kurve habe auch ich beim Bezug auf das FG erhalten, die den erheblichen Fehler bei dieser Bezugnahme aufzeigt (Abb. 1). Solange die Wasseraufnahme die AS-Bildung überwiegt, muß natürlich relativ der AS-Gehalt absinken. Die Interpretation solcher verzerrten Kurven kann dann, wie im zweiten Teil der Arbeit noch erörtert wird, zu Fehl-

deutungen des VC-Bildungsvorganges führen dergestalt, daß die Photosynthese allein in Beziehung zur VC-Synthese stünde.

Die aus den Versuchen gewonnenen Ergebnisse zeigt die graphische Darstellung (Abb. 2). Die CO_2-Ausscheidung steigt unter den Versuchsbedingungen (Keimung bei 25° C im Dunklen auf feuchtem Filtrierpapier) zunächst allmählich, von der 20. Std an immer stärker an. Um die 50. Std wird die Zunahme wieder geringer, so daß die Kurve die Gestalt der Großen Periode der Atmung wiedergibt. Infolge des

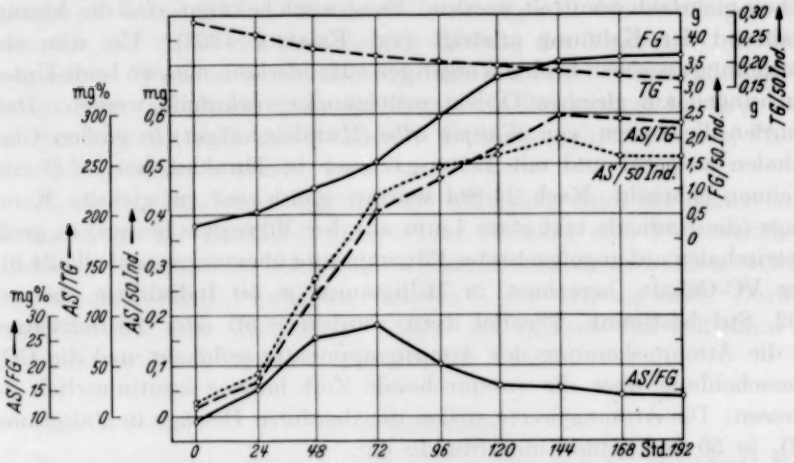

Abb. 1. Die Unterschiedlichkeit des AS-Gehaltes je nach der Beziehung auf FG (AS/FG), TG (AS/TG) oder auf das Individuum (AS je 50 Individuen) während der Keimung von *Sinapis alba* über 192 Std im Dunklen bei 25° auf feuchtem Filtrierpapier. Dazu die Zunahme des FG und die Abnahme des TG der Keimlinge während der Keimung.

Verbrauches der Reservestoffe und mangelnder photosynthetischer Stoffbildung kommt es um die 72. Std etwa zu einem Absinken der CO_2-Abgabe, das sehr allmählich erfolgt und nicht mit dem raschen Anstieg verglichen werden kann.

Betrachtet man im Vergleich dazu die Kurve des VC-Gehaltes, so ergibt sich bis zur 72. Std eine Parallelität des Kurvenverlaufes, die sich auch zahlenmäßig wiedergeben läßt. Denn 50 Individuen bilden den folgenden Zuwachs an VC von Tag zu Tag (Tabelle 1).

Tabelle 1. *Verhältnis der Atmung zur Zunahme des VC-Gehaltes von 24 Std zu 24 Std.* Mengenangabe in γ.

	Nach				
	24 Std	48 Std	72 Std	96 Std	120 Std
Atmung in γ CO_2/Std u. 50 Ind.	400	1980	2450	1950	1600
VC-Zuwachs in γ/Tag u. 50 Ind.	39	185	233	137	2,7

Aus dieser Tabelle läßt sich entnehmen, daß bis zur 72. Std der VC-Zuwachs (Differenzbetrag der VC-Gehalte) proportional der Atmung steigt. Während danach die CO_2-Ausscheidung zu sinken beginnt, vermindert sich zwar auch die VC-Zunahme, aber nicht proportional. Die Ursache dafür wird später zu erörtern sein. Sicher geht das Absinken der Atmung mit erhöhten Anstrengungen der Keimlinge einher, alle nur

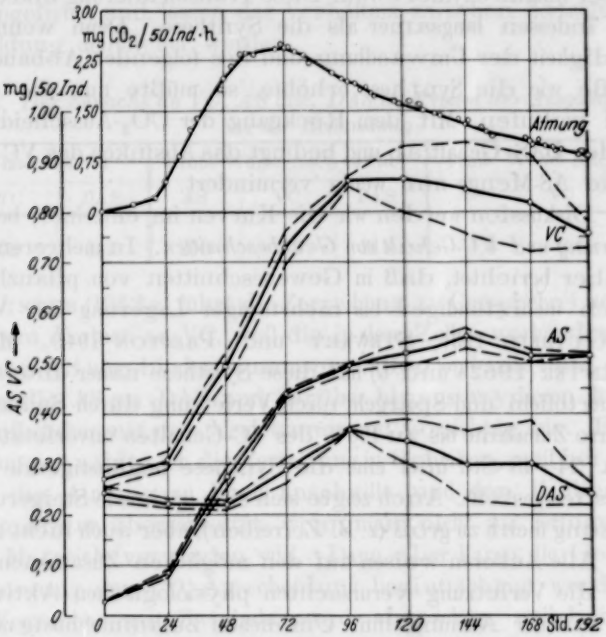

Abb. 2. Atmung und VC-, AS- und DAS-Gehalt von *Sinapis*keimlingen. Keimbedingungen wie in Abb. 1. Die ausgezogenen Linien geben die Mittelwertskurven, die gestrichelten Linien den Schwankungsbereich der Einzelkurven an.

verfügbaren Reserven zur Erhaltung des Lebens auszuwerten. Die damit verbundene, individuell verschiedene physiologische Aktivität bedingt wohl die starke Streuung der Werte zwischen der 120. und der 168. Std. Danach kündigt sich der Beginn des physiologischen Zusammenbruches an, womit zugleich die Werte wieder einheitlicher werden. Die Beziehung der Atmung zum VC-Gehalt ist in diesem destruktiven Entwicklungsabschnitt nicht so klar wie in den ersten 72 Std. Doch zeigt die Kurve des AS-Gehaltes, daß mit dem Absinken der CO_2-Ausscheidung auch die Neubildung von AS erheblich eingeschränkt wird und schließlich nicht mehr AS gebildet wird, als abgebaut oder verbraucht wird. Denn gewiß ist der jeweilige VC- bzw. AS-Gehalt nur ein Augenblickswert eines dynamischen Gleichgewichtes, bei dem die Geschwindigkeiten des Auf- und Abbaues durchaus verschieden sein

können. Das ergibt sich auch aus der Kurvenschar der Abb. 2. Der Gehalt an DAS berechnet sich aus der Differenz der Werte für VC und AS : VC — AS = DAS. Fände nun kein Abbau der AS statt, so müßte die DAS-Kurve durchgehend horizontal verlaufen. Das Ansteigen der Kurve von der 48. Std an beweist jedoch, daß der Synthese von AS ein Umwandlungsvorgang parallel geht, bei dem AS zu DAS umgewandelt und darüber hinaus oxydiert wird. Diese Transformierung und der Abbau verlaufen indessen langsamer als die Synthese. Denn wenn sich die Geschwindigkeit der Umwandlung und des folgenden Abbaues in gleichem Maße wie die Synthese erhöhte, so müßte nun die AS-Kurve horizontal verlaufen. Mit dem Rückgang der CO_2-Ausscheidung sinkt ebenfalls der DAS-Gehalt ab und bedingt das Absinken des VC-Gehaltes, da sich die AS-Menge nur wenig vermindert.

In der Diskussion werden wir die Kurven im einzelnen besprechen.

b) Atmung und VC-Gehalt von Gewebeschnitten. In mehreren Arbeiten wird darüber berichtet, daß in Gewebeschnitten von pflanzlichen Organen nach mehrstündiger bis mehrtägiger Lagerung der VC-Gehalt ansteigt (GUTHRIE 1937, STEWART und PRESTON 1940, MEDAWARA 1950). WINTER (1952a und b) hat diese Synthese näher untersucht und u. a. an Kartoffeln und Spargeln nach Verletzung durch Schneiden oder Schälen eine Zunahme bis zu 100% des VC-Gehaltes unverletzter Organe nach etwa 24—48 Std und eine die Synthese begünstigende Wirkung des Lichtes festgestellt. Auch zeigte sich eine optimale Steigerung, wenn die Verletzung nicht zu groß (z. B. Zerreiben), aber auch nicht zu geringfügig ist. Alle Autoren weisen auf den möglichen Zusammenhang mit der durch die Verletzung verursachten physiologischen Aktivität, insbesondere mit der Atmung hin. Um diesen Zusammenhang zu prüfen, wurden Versuche mit Zwiebeln, Kartoffeln und Spargeln angestellt.

I. In Vorversuchen wurde der Einfluß des Verletzungsgrades auf die VC-Bildung bei der *Küchenzwiebel (Allium cepa)* beobachtet. In Tabelle 2 wird der VC-Gehalt verzeichnet von a) in Scheiben geschnittenen, b) in grobe Würfel zerteilten und c) in feine Würfel zerhackten Zwiebeln. Dabei wurde stets eine Probe der gleichen Zwiebel vor der

Tabelle 2. *Einfluß des Verletzungsgrades auf die VC-Bildung.* VC- und AS- und DAS-Werte in mg-%.

Ganze Zwiebeln vor Behandlung			Scheiben nach 24 Std			Grobe Würfel nach 48 Std			Feine Würfel nach 24 Std		
AS	VC	DAC	AS	VC	DAS	AS	VC	DAS	AS	VC	DAS
8,0	11,95	3,95				31,3	45,1	13,8			
7,2	9,3	2,1	11,5	16,6	5,1						
8,3	12,7	4,4									
8,7	12,3	3,6									
9,4	13,2	3,8							9,0	12,95	3,95

Behandlung analysiert. (VC bzw. AS gemessen in mg-%, d. h. in mg je 100 g Gewebe.)

Daraus ergibt sich einerseits, daß mit zunehmender Wundfläche eine Steigerung der VC-Synthese verbunden ist, andererseits, daß wie bei einem Kippvorgang bei zu weitgehender Zerkleinerung der Verlust durch Oxydation größer als die Neubildung sein kann. In Tabelle 3 werden die Zuwachswerte in Prozent der Gehalte der unverletzten Zwiebeln angeführt und lassen das Verhältnis zwischen Zerteilungsgrad und Neubildung deutlicher werden.

Tabelle 3. *Der Zuwachs an VC, AS bzw. DAS in Prozent der Ausgangswerte vor der Behandlung.*

Scheiben nach 24 Std			Grobe Würfel nach 48 Std			Feine Würfel nach 24 Std		
AS	VC	DAS	AS	VC	DAS	AS	VC	DAS
60	78	142	290	277	318	—4,3	—2,0	+16

Nach Winter (1952a) führt die Zerreibung zu Gewebebrei schließlich zu gänzlichem Verlust an VC, weil die in den Zellen vorhandenen Oxydasen mit der AS ungehindert zusammentreffen und mit Hilfe des Luftsauerstoffes die AS zu DAS und darüber hinaus oxydieren können.

Man muß daher mit dem Verletzungsgrad vorsichtig sein. Für meine Untersuchungen wählte ich die Zerteilung in Scheiben, weil bei stärkerer Zerteilung die Atmung zu hoch anschwillt und den Meßbereich der Atmungsapparatur überschreitet, wenn man nicht zu geringe Mengen atmenden Materials verwenden will. Dann aber kann die Genauigkeit der Bestimmung der CO_2-Ausscheidung beeinträchtigt werden. Von weiteren Versuchen mit Zwiebeln wurde abgesehen, weil bei der VC-Bestimmung nach der H_2S-Einwirkung trotz aller Gegenmaßnahmen sehr häufig kolloidale Sulfidtrübungen durchs Filter liefen, die eine Titrierung verhinderten. Ich bediente mich daher bei den Hauptversuchen der Kartoffel und des Spargels als Objekten.

II. Die *Kartoffeln* wurden dünn geschält, um die in der Rindenschicht (Gefäßbündelscheide) besonders reichen Mengen VC zu erhalten (Lauersen und Orth 1942), und rasch mit einem Krauthobel in Scheiben von 1,6 mm Dicke geschnitten. Dabei wurden Krone und Nabel der Knollen verworfen, da nach Lauersen und Orth besonders diese Teile der Knolle einen sehr unterschiedlichen VC-Gehalt aufweisen. Die kühl gelagerten Kartoffeln wurden 5—6 Std zuvor in Zimmertemperatur gebracht, um einen durch den plötzlichen Temperaturwechsel bedingten Atmungseffekt zu vermeiden (Mommaerts 1943). Jeweils 2 oder 3 Scheiben mit einem Gewicht von zusammen etwa 5 g wurden in Petrischalen auf feuchtes Filtrierpapier gelegt und in einem dunklen Thermostaten bei 25° C aufbewahrt. Eine Probe wurde sofort auf ihren AS- und

VC-Gehalt bestimmt, während die übrigen in Abständen von einigen Stunden bis zur 96. Std analysiert wurden. Jede Probe kam jeweils einige Stunden vorher bis zur Analyse in den URAS, um ihre CO_2-Ausscheidung zu messen. Alle Proben eines Versuches stammten von der gleichen Knolle, deren Scheiben quer zur Längsachse geschnitten waren. Die AS- bzw. VC-Werte wurden hier auf das FG zu Beginn des Versuches (Stunde 0) bezogen. Auf feuchtem Papier saugen die Scheiben Wasser an und bleiben prall. Die VC-Werte sind aber auch nicht wesentlich geringer, wenn die Scheiben ohne Filtrierpapier und Wasser in die Petrischalen gelegt werden. Eine Berechnung der Werte mit Bezug auf das TG erübrigt sich, da sich die Werte stets um den gleichen relativen Betrag erhöhen. Es sei bemerkt, daß Infektionen durch Pilze oder Bakterien niemals beobachtet wurden.

Ein Vergleich der Ergebnisse der zahlreichen Versuche untereinander hat nur einen beschränkten Wert, da jeder Versuch mit 7—10 Analysen immer an einem Individuum ausgeführt wurde und das Verhältnis der verletzten Fläche zur Menge an Gewebe in der Scheibe wohl auch immer relativ verschieden ist je nach der Form der Knolle. Von der Verwendung eines Korkbohrers, um immer flächengleiche Stücke zu erhalten, wurde abgesehen, da durch Benutzung eines Metallgerätes und durch die zwangsläufig ausgedehntere Vorbereitung eine höhere Oxydation insbesondere bei den Kontrollen, die sogleich analysiert werden mußten, erfolgen können.

Die Atmungsintensität als CO_2-Abgabe wurde umgerechnet in absolute Beträge in mg-%, d. h. in mg CO_2 je 100 g Gewebe und Stunde.

Grundsätzlich sagen alle Versuche das gleiche aus (Abb. 3—7). Beim Anschneiden steigt die CO_2-Ausscheidung zunächst sprungartig an und fällt danach wieder fast auf den Wert der unverletzten Knolle zurück. Dann erhöht sie sich bis etwa zur 45.—50. Std und sinkt von diesem Maximum (zwischen 50—60 mg-%) wieder ab. (Die CO_2-Kurve vor dem Zeitpunkt 0 bezeichnet die CO_2-Ausscheidung der unverletzten ganzen Knolle in mg-% CO_2/Std.)

Fast parallel zur CO_2-Kurve verlaufen auch die Kurven der AS- und VC-Werte mit Ausnahme im Bereich des ersten CO_2-Maximums in der ersten Stunde nach dem Schneiden. Dieses erste CO_2-Maximum ist ohne Zweifel auf die infolge des Schnittes plötzlich aus den Intercellularen ungehindert austretende CO_2-Menge zurückzuführen. Gleichlaufend zu diesen physiologischen Vorgängen zeigt sich schon makroskopisch auf den Wundschichten eine Korkbildung, die nach 48 Std, also zur Zeit des VC-Maximums, sichtbar wird und bis zur 96. Std deutlich zunimmt. Der abfallende Ast der Kurven deckt sich physiologisch mit dem zunehmenden Verschluß der Wunden, d. h. die an ein Fieber erinnernde Atmung kehrt allmählich in normale Ausmaße zurück.

Überraschend ist die Übereinstimmung in der Tendenz der Kurven. Wenn auch die Teilkurven der CO_2-Abgabe (jeweils die CO_2-Kurve der Proben einige Stunden vor der Analyse) in ihren Werten nicht absolut aneinanderschließen (Abb. 3), weil ja jede Probe für sich wieder eine Individualität darstellt, so zeigen sie aber eindeutig die Steigerung oder Minderung der CO_2-Ausscheidung. Und diesem Verlaufe entsprechen die Kurven der AS- und VC-Werte. Wie schon bei der Kurvenschar der Keimlingsversuche zu erkennen war (Abb. 2), erhöht sich der VC-Gehalt als Summe der Gehalte von AS und DAS im Bereich des VC-Maximums zum Teil durch die Zunahme an DAS. Die ständige Wiederkehr der gleichen Erscheinung bei den wiederholten Versuchen kann nicht auf eine etwaige Ungenauigkeit der AS-Bestimmung, die ja wegen der leichten Oxydierbarkeit der AS während der Analyse immerhin denkbar wäre, zurückgeführt werden. Es läßt sich daraus ableiten, daß auch hier eine Neubildung von AS erfolgt, die bei steigender Atmung rascher verläuft als die Umwandlung der AS und der DAS. Da im Organismus sehr wahrscheinlich auch DAS zu AS reduziert werden kann, müssen wir freilich vorsichtiger sagen, daß die Menge der durch Neubildung plus der durch Reduktion aus DAS entstandenen AS größer ist als die durch Oxydation umgewandelte und abgebaute Menge AS. Es besteht also auch hier ein dynamisches Gleichgewicht.

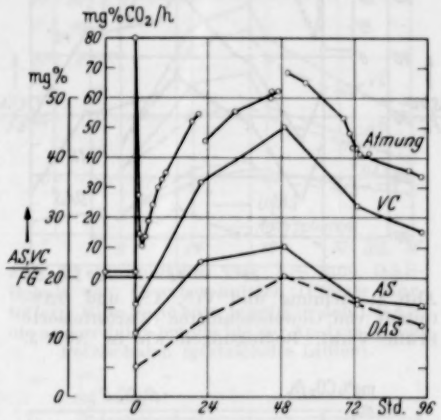

Abb. 3. Atmung und VC-, AS- und DAS-Gehalt von Gewebeschnitten (Pfälzer Kartoffel) bei 25° im Dunklen über 96 Std nach der Verletzung. Jede Probe kam nach der vorhergehenden in den URAS zur Atmungsmessung und dann zur Analyse.

Die Versuche wurden in einer zweiten Serie wiederholt und dabei die Sorte „Frühe Vera" verwendet. Hierbei zeigte sich, daß im anfänglichen Verhalten ein Unterschied insofern besteht, als gegenüber der in der ersten Serie geprüften „Pfälzer Kartoffel" bis zur 7. Std ein nicht unbeträchtliches Absinken des VC-Gehaltes unter die Menge der unverletzten Kartoffel erfolgte und die Neubildung erst später einsetzte (Abb. 4). Diese Erscheinung kann eine Sorteneigentümlichkeit sein, die vielleicht auf einem größeren Gehalt an Oxydasen beruht, die beim Schneiden in direkten Kontakt mit Sauerstoff und AS kommen und eine rasche Oxydierung der AS über die DAS hinaus bewirken. Oder es ist die AS infolge alkalischeren Zellsaftes weniger gegen Oxydation

geschützt. Jedoch kann die Ursache auch darin begründet sein, daß die Knollen kurz nach der Ernte verwendet wurden, während die Knollen der Pfälzer Kartoffel schon etwa 3—4 Monate gelagert waren, ehe sie zum Versuch benutzt wurden.

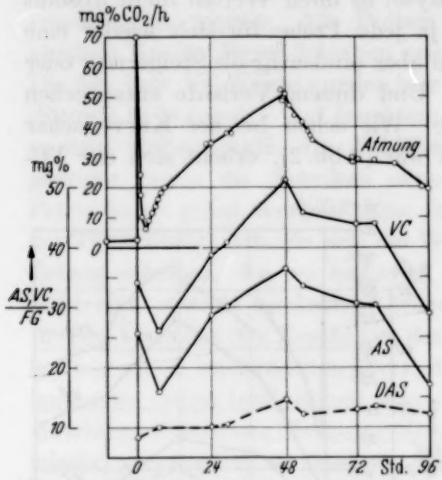

Abb. 4. Atmung und VC-, AS- und DAS-Gehalt von Gewebeschnitten (Kartoffelsorte Frühe Vera). Bedingungen wie in Abb. 3.

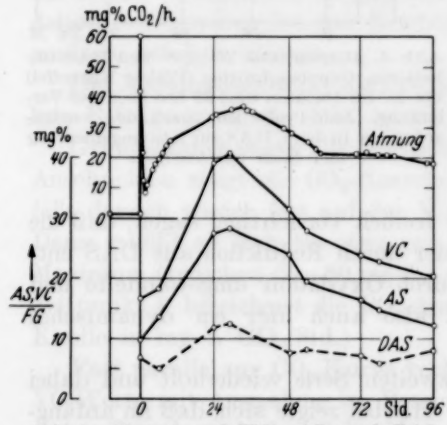

Abb. 5. Atmung und VC-, AS- und DAS-Gehalt von Gewebeschnitten (Pfälzer Kartoffel). Eine Probe blieb während der ganzen 96 Std im URAS (Atmungskurve), die übrigen Proben kamen aus den Petrischalen direkt zur Analyse.

Daß die Umbettung der Schnitte in die Atmungskammer einige Stunden vor der Analyse keinen Einfluß auf die Atmung hatte, zeigen Versuche, bei denen die Schnitte gleich aus den Petrischalen heraus zur Analyse kamen und nur eine Probe über die ganzen 96 Std im URAS blieb (Abbildung 5). Die CO_2-Kurve erreicht das Maximum allerdings schon in der 35. Std, besitzt aber den üblichen Verlauf. Umgekehrt ergaben Vergleichsversuche, in denen jeweils eine Probe in den URAS kam, eine zweite aber in den Schalen bis zur Analyse beider Proben belassen wurde, daß die VC- und AS-Werte der in den Petrischalen verbliebenen Proben stets etwas geringer waren (durchschnittlich etwa 10%) als die Werte der Proben, die in den URAS gebracht wurden (Abb. 6). Die Erklärung dafür ist in der besseren Belüftung zu suchen, denn in der Atmungskammer werden die Gewebeschnitte dauernd von einem Luftstrom umflossen, während innerhalb der Petrischalen ein abgeschlossenes Gassystem vorliegt. Wenn aber die AS-Bildung mit der Atmung verknüpft ist, muß natürlich eine bessere Sauerstoffversorgung in gewissen Grenzen auch eine relative Verstärkung der AS-Synthese bewirken und umgekehrt. Die Überkreuzung der Kurven zwischen der 72. und der 96. Std ist sicher kein Zufall, denn sie wiederholt sich in fast allen diesbezüglichen Versuchen. Die damit

gekennzeichnete stärkere Umwandlung der AS in den URAS-Proben wird ohne Zweifel ebenfalls durch die bessere Sauerstoffversorgung bedingt, während die AS in den Petrischalenproben durch die CO_2-Anreicherung nach 80 Std gleichsam konserviert wird.

Die Probe aufs Exempel für die Sauerstoffabhängigkeit der VC-Synthese lieferten Versuche, bei denen Gewebeschnitte unter Stickstoff aufbewahrt wurden (Abb. 7). Hier ist die Neubildung von AS nur ganz gering und beruht wohl auf dem Intercellularensauerstoff und den im System befindlichen Spuren von O_2. Im VC-Gehalt ist so gut wie keine Steigerung festzustellen, sondern nur ein schwaches Absinken, dessen Allmählichkeit wohl durch den Mangel an O_2 bedingt wird, wodurch auch die Oxydierung der AS gehemmt ist. Die Atmung wird in diesem Falle auf anaerobe (intramolekulare) Atmung umgestellt. Eine dabei auftretende Produktion von Buttersäure, die ja bereits bei geringen Spuren deutlich wahrnehmbar ist, mag vielleicht schon durch Bakterien bedingt sein. (Über eine Bildung von Buttersäure ohne bakterielle Mitwirkung ist meines Wissens noch nicht berichtet worden.) Nach 72 Std setzt dann eine sich steigernde Histolyse ein.

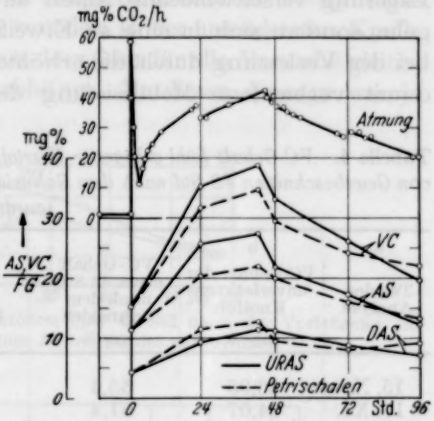

Abb. 6. Atmung und VC-, AS- und DAS-Gehalt von Gewebeschnitten (Pfälzer Kartoffel). Eine Serie kam jeweils in den URAS, die andere blieb jeweils bis zur Analyse in den Petrischalen (gestrichelte Linien).

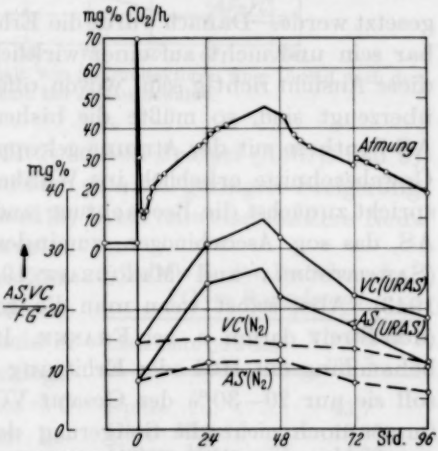

Abb. 7. Atmung und VC-, AS- und DAS-Gehalt von Gewebeschnitten (Pfälzer Kartoffel). Eine Serie normal belüftet (URAS), die andere im Stickstoffstrom (gestrichelte Linien).

Die Steigerung des VC-Gehaltes nach der Verwundung führt im Bereich des Maximums bis etwa zum Zweieinhalbfachen des VC-Gehaltes der unverletzten Knollen. Frisch geerntete Knollen besitzen durchschnittlich einen VC-Gehalt von 30—40 mg-%. Mit Beginn der Lagerung nimmt der Gehalt anfangs rasch, später langsamer ab (Tabelle 4, Spalte b) und erreicht im Frühjahr (Februar bis April)

etwa 15 mg-%. Dasselbe berichten auch FELLENBERG und WUHRMANN (1942).

ASSELBERGS und FRANCIS (1952) glauben nun, daß der während der Lagerung verschwindende Anteil an AS nicht durch Abbau verlorengehe, sondern sich in eine an Eiweiß gebundene Form umwandle, die bei der Verletzung durch die erhöhte physiologische Aktivität und die damit verbundene Mobilisierung des Fermentapparates wieder frei-

Tabelle 4. *VC-Gehalt kühl gelagerter Kartoffeln von der Ernte bis zum Frühjahr und von Gewebeschnitten 48 Std nach dem Schneiden, die im Dunklen bei 25° C aufbewahrt wurden.*

a Tag der Analyse	b VC-Gehalt der unverletzten Knollen mg-%	c VC-Gehalt etwa 48 Std nach dem Schneiden mg-%	d Zunahme in % der Kontrolle	e Absolute Zunahme nach 48 Std mg-%	f Lagerungsdauer Monate
15. X.	36,95	55,4	50	18,45	keine
17. XI.	34,07	51,4	50	17,33	1
22. I.	14,4	32,7	127	18,3	3
29. I.	15,16	37,76	149	22,0	3,5
3. III.	15,86	39,4	148	23,54	4,5
23. III.	14,6	32,0	119	17,4	5

gesetzt werde. Danach würde die Erhöhung des AS-Gehaltes nur scheinbar sein und nicht auf einer wirklichen Neubildung beruhen. Würde diese Ansicht richtig sein, wovon offenbar auch die Verfasser nicht fest überzeugt sind, so müßte die bisher gewonnene Auffassung, daß die AS-Synthese mit der Atmung gekoppelt sei, zumindest für den Fall der Gewebeschnitte erheblich ins Wanken geraten. Dieser Ansicht widerspricht zunächst die Beobachtung anderer Autoren, daß eine gebundene AS, das sog. Ascorbinogen, zumindest bei der Kartoffel nicht bestehe (SABALITSCHKA und MARGGRAFF 1948/49, MARX 1952, MOMMAERTS 1943). Aber selbst wenn man die gebundene Form für erwiesen hält (den Streit darum s. bei FRANKE, 1954) und glaubt, sie durch Säurebehandlung mit HCl oder Erhitzung auf 100° freisetzen zu können, so soll sie nur 20—30% des Gesamt-VC betragen. Dann ließe sich aber immer noch nicht die Steigerung des VC-Gehaltes 48 Std nach dem Schneiden um nahezu 150% (Tabelle 4, Spalte d) in Übereinstimmung damit bringen. Auch dürfte bei frisch geernteten Kartoffeln im Gewebeschnittversuch keine VC-Erhöhung eintreten. Diesbezügliche Versuche ergaben aber, daß auch hier an frisch geernteten Knollen nach 48 Std der VC-Gehalt um 50% gesteigert wurde (Tabelle 4, Spalte d, Versuch vom 15. 10.). So ist an einer Neubildung der AS in Gewebeschnitten nicht zu zweifeln. In Spalte e der Tabelle 4 ist weiterhin die jeweilige absolute Zunahme an VC als Differenz zwischen dem VC-Gehalt der

unverletzten Knolle und dem maximalen VC-Gehalt der Gewebeschnitte um die 48. Std eingetragen. Im Vergleich zur relativen Zunahme in Prozent (Spalte d) sind die Beträge viel einheitlicher und belaufen sich auf etwa 19,5 mg-%. Daraus ist aber abzuleiten, daß die VC-Synthese bei den Verletzungsversuchen nicht von dem in der unverletzten Knolle vorhandenen VC-Spiegel, sondern von dem (hier für alle Versuche gleichsinnigen) Umfang der Verletzung abhängt. Zu dieser Aussage war ja auch WINTER (1952a) gekommen.

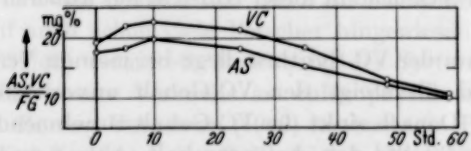

Abb. 8. VC- und AS-Gehalt von Spargelsektoren über 60 Std nach der Verletzung, im Dunklen bei 25° auf feuchtem Filtrierpapier aufbewahrt.

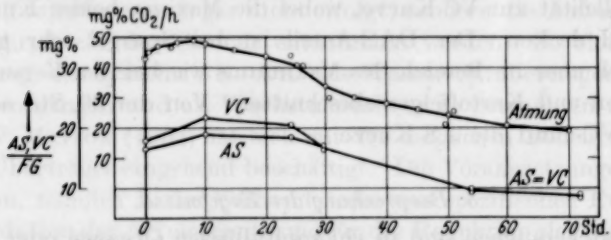

Abb. 9. Atmung und VC-, AS- und DAS-Gehalt von Spargelsektoren über 70 Std nach der Verletzung, im Tageslicht bei 25° aufbewahrt.

III. Die Versuche mit Gewebeschnitten von *Spargel* (Abb. 8 und 9) ergaben gegenüber den Kartoffelschnitten eine viel geringere Steigerung des VC-Gehaltes. WINTER (1952a und b) hatte teilweise stärkere Neubildung beobachtet. Jedoch mag das seine Ursache in der abweichenden Art des Zerschneidens haben. WINTER hatte die Spargelsprosse ohne Spitze und Basis in Querscheiben von 1 mm Dicke zerlegt. Die Überprüfung der Verteilung des VC im Sproß ergab jedoch außer der bekannten Tatsache, daß die Spargelspitzen die vitaminreichsten Teile sind, daß auch der Mittelteil nach der Basis zu nicht unerheblich an VC verarmt (Tabelle 5). Durch die geldrollenartige Unterteilung der Spargelsprosse in Querschnitte können daher ungleichwertige Teile entstehen, die einen Vergleich untereinander nicht zulassen. Um nun exakt vergleichbare Abschnitte von ein und demselben Spargelsproß zu erhalten, wurden dicke Sprosse radial in acht Sektoren längsgeteilt. Bei dieser

Tabelle 5. *Die Verteilung des VC im Spargelsproß.*

Abschnitt (je 5 cm)	VC-Gehalt mg-%
Spitze	43,7
Obere Mitte . .	19,96
Untere Mitte .	14,38
Basis	13,42

Art des Zerteilens sind natürlich die Wundflächen viel kleiner als bei Querschnitten, woraus gemäß der geschilderten Abhängigkeit der VC-Synthese vom Verletzungsgrad die geringe Neubildung resultieren mag. Die Sektoren wurden wie die Kartoffelproben in Petrischalen auf feuchtes Filtrierpapier gelegt, bei 25° C sowohl im Dunklen als auch im Tageslicht gehalten und im Abstand von mehreren Stunden über 3 Tage analysiert. Die von WINTER angegebene Förderung der VC-Bildung durch Belichtung konnte jedoch nicht beobachtet werden. Leider war eine Ausdehnung der Versuche in dieser Hinsicht aus äußeren Gründen nicht möglich.

Das Maximum der VC-Synthese liegt bei meinen Versuchen etwa in der 10. Std und übersteigt den VC-Gehalt unverletzter Sprosse um etwa 20—22%. Danach sinkt der VC-Gehalt zunehmend ab und unterschreitet um die 30. Std den Anfangsgehalt (Abb. 8 und 9). In Abb. 9 ist auch der Verlauf der CO_2-Ausscheidung eingetragen. Er zeigt wieder eine Parallelität zur VC-Kurve, wobei die Maxima beider Kurven sich annähernd decken. Der DAS-Anteil ist bei Spargel sehr gering, er erhöht sich aber im Bereich des Maximums wie bei den Versuchen mit Keimlingen und Kartoffelgewebeschnitten. Von der 30. Std an decken sich die VC- und die AS-Kurve.

3. Besprechung der Ergebnisse.

In allen Versuchen sind in chlorophyllfreien Organen oder Geweben Erhöhungen des VC-Gehaltes bei Vorgängen beobachtet worden, die mit einer erhöhten CO_2-Ausscheidung verbunden sind. Steigerungen sowohl der Atmungsintensität als auch des VC-Gehaltes sind für sich schon früher untersucht worden. Hier sind beide in Beziehung zueinander dargestellt und am gleichen Objekt ermittelt worden. Für die Samen von *Sinapis alba* ergibt sich eine weitgehende Proportionalität vor allem in den ersten Stunden. Mit dem Einsetzen und Ansteigen der CO_2-Ausscheidung geht bei den keimenden Samen die Neubildung von VC einher, wobei die Photosynthese bzw. das Ergrünen der Keimblätter infolge Lichtmangels während der ganzen Versuchsdauer ausgeschlossen ist. Das beweist, daß die VC-Bildung zumindest im Falle der Keimung allgemein weder an die Photosynthese, noch an Licht gebunden ist. Während aber bei den Kartoffelschnittversuchen wohl dank reichlichen Reservestoffgehaltes die physiologische Anstrengung zwecks Wundverschlusses nach einem Maximum der CO_2-Abgabe und der VC-Bildung ruhig ausklingt, wird im Gegensatz dazu bei den Keimlingsversuchen infolge eines regelrechten Verhungerns die physiologische Organisation gestört, weil sich die für eine gleichmäßige Weiterentwicklung notwendigen Nährstoffreserven und die für die VC-Bildung verwertbaren Ausgangssubstanzen (Vorstufen) erschöpfen. Der fortlaufende Ver-

brauch der Energiereserven endet also in einer Katastrophe und führt zum Hungertode. Vorher aber werden alle Nährstoffvorräte aufgezehrt, wobei auch das VC ohne Zweifel angegriffen wird und daher der VC-Gehalt absinkt, allerdings nicht proportional der Atmung.

Die Übereinstimmung von Atmungs- und VC-Gehaltserhöhung wirft nun die Frage auf, was Ursache und was Wirkung ist. Damit verbindet sich zunächst das Problem der Funktion der AS im Organismus der Pflanze, das bis heute noch nicht geklärt ist. Es erscheint naheliegend anzunehmen, daß das System AS—DAS als ein Redox-System dienen könnte, worauf auch schon viele Forscher hingewiesen haben. Die von Bukatsch (1939/40) vermutete Bedeutung des Systems für die Photosynthese ist für unsere Versuche an chlorophyllfreien Organen ohne Belang. Auch die von Virtanen (1949) beobachtete Bedeutung für die Nitratreduktion kann hier keine Rolle spielen, da in diesem Stadium der Entfaltung der Keimblätter und der Ausbildung des Wurzelsystems eine Nährstoffaufnahme noch gar nicht erfolgt, sondern die Aufbaustoffe aus dem Nährgewebe des Samens entnommen werden. So bleibt nur die Bedeutung des Systems AS—DAS als Wasserstoffüberträger bei Stoffwechselvorgängen und als Wachstumsfaktor zu betrachten übrig.

L. W. Mapson (1953) hat sich mit der möglichen Bedeutung der AS als H_2-Überträger eingehend beschäftigt. Die Voraussetzungen für diese Funktion, nämlich 1. das Vorhandensein von spezifischen Enzymen für die Oxydation der AS einerseits und für die Reduktion der DAS andererseits, 2. die Notwendigkeit, daß die Oxydations- und Reduktionsvorgänge in adäquatem Ausmaß ablaufen, 3. die Mitwirkung anderer Redoxsysteme am H_2-Transport der AS-DAS bis zur Endoxydation, diese Voraussetzungen sind nach in-vitro-Versuchen wohl gegeben. Inwieweit sie aber auch in vivo bestehen, bedarf noch der Klärung.

Rubin und Mitarbeiter (1946) haben an Hagebutten gezeigt, daß eine Erhöhung des AS-Gehaltes, induziert durch Fütterung mit Glucose, zwar mit einer Steigerung der Atmung einherging, daß aber während des Reifevorganges der Früchte die Atmung weiter anstieg, obwohl sich der AS-Gehalt zunehmend verminderte. In unserem Falle bei den Keimlingen dagegen vermindert sich von der 72. Std ab die Atmung, während der AS-Gehalt noch weiter ansteigt (Abb. 2). Es kann also die vorhandene Menge AS weder direkte noch indirekte Ursache oder Mittler der Atmung in Rubins wie in unserem Falle sein. Denn sonst müßte sich zumindest im Beispiel des steigenden AS-Gehaltes auch die Atmung bzw. die CO_2-Ausscheidung erhöhen. Das ist offensichtlich nicht der Fall. Würde die AS aber als Mittler (H_2-Überträger) am Atmungsgeschehen teilnehmen, so ist der von Mapson (1953) betonten Ansicht zuzustimmen, daß dann schon eine geringere Konzentration an AS genügen müßte, als hier und in anderen Geweben vorhanden ist.

Die Zugabe von AS zu keimenden *Sinapis*samen bewirkt, in größeren Mengen gegeben, jedenfalls keine Steigerung der CO_2-Abgabe, vielmehr eine Hemmung (FRANKE 1953), wenn diese nicht etwa infolge der Ansäuerung zustande kommt.

Will man die Bedeutung der AS in der Funktion als Wachstumsfaktor sehen (v. HAUSEN 1935/36, RAADTS 1948), so gilt aber erst recht, daß eine hohe Konzentration nicht erforderlich und die Atmung im Zusammenhang mit dem Wachstum nicht proportional der AS-Konzentration sein dürfte.

Aus alledem geht hervor, daß zwar das VC den Voraussetzungen nach funktionell am Atmungsgeschehen beteiligt sein kann, gleichgültig ob zur Erhaltung des Energiepotentials für den allgemeinen Stoffwechsel oder zur Bereitstellung besonderer Energiemengen für den Wachstumsvorgang. Der Beweis in vivo steht dafür allerdings noch aus. In unserem Zusammenhang jedoch muß betont werden, daß, selbst wenn diese Funktion in vivo ausgeübt würde, schon eine viel geringere Konzentration an VC ausreichen müßte, um den biochemischen Atmungsablauf in genügender Intensität zu gewährleisten. Das heißt, die Menge an VC muß nicht mit der Atmungsintensität korreliert sein.

So erscheint es nicht zwingend anzunehmen, daß die beobachtete Steigerung der CO_2-Ausscheidung auf der erhöhten VC-Bildung beruht. Vielmehr drängt sich die umgekehrte Ansicht auf, daß die sich steigernde VC-Konzentration als Folge einer erhöhten Atmung anzusehen ist.

Betrachten wir die Versuchsergebnisse unter diesem Gesichtspunkt, so läßt sich die Kurvenschar der Abb. 2 für Keimlinge folgendermaßen deuten: Mit Beginn der Keimung setzt eine Aktivierung des Enzymapparates ein. Stärke und Fette werden zu transportfähigen Verbindungen umgewandelt, die nun zu den wachsenden Zonen verlagert werden. Dort werden sie unter gleichzeitiger Wasseraufnahme in die sich streckenden und teilenden Zellen eingebaut unter Umwandlung in die notwendigen Verbindungen. Zu diesem Geschehen ist Energie erforderlich, die in diesem Stadium allein durch Veratmung eines Teiles der Reservestoffe gewonnen werden kann. Diese Atmungsvorgänge, die noch vor dem morphologisch sichtbaren Beginn der Keimung einsetzen, steigern sich im Verlauf der nächsten Stunden zunehmend, was in der Großen Periode der Atmung zu erkennen ist. Dabei werden die verfügbaren Reserven mobilisiert. Nach etwa 50 Std vermindert sich die Intensität der CO_2-Ausscheidung etwas, hält sich eine Zeitlang auf gleicher Höhe, sinkt aber schließlich aus Mangel an oxydabler Substanz ab. Die Atmungsintensität bleibt dabei zunächst aber immer noch ziemlich hoch.

Wenn nun das VC gleichsam als ein Nebenprodukt der Atmung entstehen würde, so wäre sein proportionaler Anstieg bis zur 72. Std

zu begreifen. Schwierigkeiten könnte aber das Verständnis des weiteren Ansteigens bis zur 96. Std finden, denn in diesem Abschnitt beginnt die CO_2-Abgabe wieder zu sinken. Wie jedoch aus der VC-Kurve zu ersehen ist, vermindert sich auch die Intensität der VC-Bildung, d. h. der Anstieg ist in diesem Abschnitt nicht mehr so steil wie zuvor. Von der 96. Std an bleibt die VC-Konzentration zunächst auf gleicher Höhe und sinkt dann allmählich ab. Wie oben schon auseinandergesetzt worden war, ergibt sich der VC-Gehalt aus den beiden Komponenten AS und DAS. Die VC-Synthese stellt daher eine Bildung von AS dar, von der dann wieder durch Oxydation ein Teil zu DAS und darüber hinaus umgewandelt und schließlich abgebaut wird. Während nun die Geschwindigkeit des Synthesevorganges von der Atmungsintensität bestimmt wird, hängt die Geschwindigkeit des Umwandlungsvorganges sehr wahrscheinlich von der Temperatur ab (s. 2. Teil der Arbeit). In unseren Versuchen bei konstanter Temperatur von 25° C dürfte daher das Ausmaß der Umwandlung jederzeit anteilmäßig das gleiche sein, jedoch stets geringer als die Intensität der AS-Synthese. In der Tat beträgt der DAS-Gehalt bei den Keimlingsversuchen zwischen der 48. und 192. Std durchschnittlich 65% des AS-Gehaltes. Dann muß ferner die DAS-Konzentration unter der Annahme, daß infolge gesteigerter Atmung erheblich mehr AS gebildet wird, ebenfalls ansteigen. Auch das trifft zu, lediglich der Anfangsverlauf der DAS-Kurve scheint dem zu widersprechen. Denn diese sollte sich schon von der Stunde 0 an erhöhen. Zur Erklärung der höheren DAS-Werte in der Stunde 0 und 24 ist aber zu sagen: Zum einen bieten gequollene und besonders lufttrockene Körner der Zerreibung bei der Extraktbereitung großen Widerstand, so daß diese länger dauert als bei zarten Keimlingen. Dabei kann Sauerstoff leichter zutreten, und trotz der stabilisierenden Metaphosphorsäure kommt es zu einer Oxydation der AS, so daß der höhere DAS-Gehalt bei diesen Bestimmungen zumindest zum Teil manipulatorisch bedingt ist. Zum anderen aber besteht die Möglichkeit, daß in ruhenden Samen der an sich geringe VC-Gehalt zum größeren Teil in Form der DAS vorliegt, die mit Beginn der Keimung erst allmählich abgebaut wird. Dafür sprechen auch Angaben von Seybold und Mehner (1948) über den AS- und VC-Gehalt von Samen, insbesondere von weichen und geschälten Samen.

Von der 48. Std an erhöht sich der DAS-Gehalt bei weitersteigenden Mengen von AS. Diese Veränderung entspricht der beschriebenen Auffassung des dynamischen Gleichgewichtes. Vermindert sich nun die Atmung, bleibt aber die Intensität noch hoch genug, so wird immer noch mehr AS gebildet als oxydiert und abgebaut. Daraus resultiert also für die Zeit zwischen der 72. und 96. Std eine immer noch wenn auch schwächer ansteigende VC-Konzentration. Gleichzeitig vermindert sich, als überlagernder Vorgang, die Menge an Bildungsstoffen, die zugleich

Vorstufen für die AS-Synthese darstellen. Im Bestreben, sich am Leben zu erhalten, greift der Organismus nunmehr auf alle Reserven zurück und veratmet schließlich auch die Nebenprodukte. In diesem Stadium ist eine AS-Bildung trotz relativ starker Atmung in proportionalem Ausmaß nicht mehr möglich. Die Intensität des Abbaues wird infolgedessen relativ größer, so daß der VC-Gehalt als Ergebnis des dynamischen Gleichgewichtes zwischen beiden Vorgängen absinkt. Unter normalen Umständen, d. h. bei Belichtung der Keimlinge, setzt aber um die 60. Std die Photosynthese ein, durch welche neue Bildungsstoffe entstehen. Dann wird sich natürlich die Atmung auf gleicher Höhe erhalten können oder allmählich mit anwachsender Vergrößerung des Organismus erhöhen. Zugleich damit wird auch die von GLICK (1937) und MOLDTMANN (1939/40) beobachtete zweite Steigerung der AS-Bildung erfolgen.

Ich bin mir bewußt, daß diese Darstellung als Deutung noch keine Beweiskraft besitzt. Aber wenden wir uns nun den Gewebeschnittversuchen zu und prüfen an ihnen die vorgetragene Vorstellung der AS-Bildung als Folge der Atmung.

Als Ergebnis der Verletzung der Gewebe wird eine Vielzahl von physiologischen Vorgängen aktiviert. So wird die Atmung erhöht, die gleichsam wie eine Fieberkurve ansteigt und erst nach und nach absinkt. Das Ausmaß der Glykolyse nimmt sprunghaft zu, in den der Wundfläche benachbarten Zellen von Kartoffelgewebe lösen sich die Stärkekörner auf (HABERLANDT 1913), als Folge der Atmung erhöht sich die Temperatur (BÜNNING 1953), Proteine werden in verstärkter Menge gebildet und der Anteil an löslichen Stickstoffverbindungen sinkt (STEWART und PRESTON 1940) und auch der VC-Gehalt wächst. Alle diese Vorgänge (Bereitstellung von Baustoffen, Freistellung von Energie zum Transport und zur Umformung dieser Baustoffe in spezifische Zellsubstanzen) setzen ein, um die Wunde zu verschließen und den Regenerationsprozeß ablaufen zu lassen. Die Wundstelle wird je nach dem Vermögen der geschädigten Pflanze verschieden stark durch Neubildung von Gewebe, ausgehend von den unverletzten Zellen, verschlossen. Bei Kartoffelgewebe wird ein Wundkork gebildet. Nach 48 Std ist bereits ein zartes Häutchen zu erkennen, das zunehmend erstarkt und bei der Zerreibung des Gewebes 96 Std nach der Verletzung in Form brauner Schüppchen auf der Oberfläche des Extraktionsmittels schwimmt.

Wieweit Nekrohormone (HABERLANDT 1921) oder andere Wirkstoffe diesen Regenerationsvorgang auslösen, soll hier außer Betracht bleiben. Im Zusammenhang mit der vermehrten Bildung von AS tritt aber die Frage auf, ob nicht das VC eine auslösende Wirkung auf diese Gewebebildung ausüben könnte. Hier gilt aber das bereits oben Gesagte, daß nach der bisherigen Erfahrung Wirkstoffe eben schon in sehr geringen Konzentrationen wirken. Es ist daher kaum anzunehmen, daß eine Steigerung der VC-Konzentration von 2×10^{-4} auf 5×10^{-4}

wie in unserem Falle für einen Wachstumseffekt entscheidend ist. Ferner läßt sich eine atmungsstimulierende Wirkung der AS ausschließen, da lagernde Kartoffeln einen VC-Gehalt von 34 mg-% besitzen und doch eine sehr geringe Atmung von etwa 1—2 mg-% CO_2/Std aufweisen. Die Erhöhung des VC-Gehaltes um 17 mg-% von 34 auf 51 mg-%, also um 50%, 48 Std nach der Verletzung, sollte dann die Ursache der Steigerung der CO_2-Abgabe von 2 auf 51 mg-% CO_2/Std, d. h. um 2500% sein? (Abb. 4.) Das ist nicht anzunehmen, selbst wenn angesichts der unterschiedlichen Verteilung des VC in der Knolle Zellschichten, die vorher nur wenig VC enthielten, infolge der Verletzung reichlicher AS bilden sollten.

Im Zusammenhang mit der Frage nach Ursache und Wirkung dürfte also die Steigerung der CO_2-Ausscheidung nicht die Folge der AS-Bildung sein. Kann nun die erhöhte Atmung Ursache des VC-Anstieges bei der Verletzung sein? Dazu wollen wir jetzt den Verlauf der Gewebeschnittkurven diskutieren.

Das starke Ansteigen der CO_2-Ausscheidung bei den Kartoffelschnitten unmittelbar nach der Verletzung ist, wie schon erwähnt wurde, wohl nicht auf eine plötzliche Erhöhung der Atmungsintensität zurückzuführen. Vielmehr erfolgt durch die Öffnung des Gewebes eine vom Abschlußgewebe nunmehr ungehinderte Entbindung des im Gewebe gespeicherten CO_2, das frei abdiffundieren kann und den plötzlichen Anstieg der CO_2-Kurve bedingt. Ergänzt man in der graphischen Darstellung der CO_2-Kurven den tiefsten Punkt nach dem ersten Maximum jeweils mit dem Atmungsruhewert bei der Stunde 0, so ergibt sich eine gleichmäßig ansteigende Kurvenstrecke, die sich harmonisch in das Kurvenbild einfügt (s. z. B. Abb. 3).

Winter (1952b) hatte in seiner Arbeit bereits festgestellt, daß bei gewässerten, aber nicht belüfteten Schnitten die Zunahme des VC-Gehaltes ausbleibt. Allerdings will er daraus nicht eine Notwendigkeit des Sauerstoffes für die VC-Synthese ableiten, weil mit einer Atmungshemmung auch die VC-Synthese unterbunden werden, d. h. der gesamte Stoffwechsel gebremst werden könnte. Die Beobachtung aber (Abb. 6), daß die in Petrischalen dauernd im annähernd geschlossenen Gassystem verbleibenden Gewebeschnitte weniger VC bilden (durchschnittlich 10 bis 12%) als die in der Atmungskammer liegenden, die ständig vom Luftstrom umflossen werden, scheint mir die Notwendigkeit des Sauerstoffes für die AS-Bildung über Atmungsteilvorgänge zu beweisen. Denn innerhalb der Petrischale kommt es infolge der Atmung zu einer CO_2-Anreicherung und O_2-Verarmung, die beide die Atmungsintensität vermindern müssen. Wenn damit eine Verminderung der VC-Bildung einhergeht, so läßt dies erkennen, daß die VC-Bildung von der Atmung abhängt. Wäre die Verletzung Ursache der VC-Bildung, die dann die Atmung bedingen sollte, so müßte ja in diesem Falle die AS-Bildung

der Schnitte in den Petrischalen ebenso hoch sein wie die der in der Atmungskammer liegenden Schnitte.

Eine Bestätigung der hier gewonnenen Erkenntnisse liefert eine Arbeit von SMITH (1952), die dem Verfasser bekannt wurde, als seine Versuche gerade abgeschlossen waren. SMITH hat ebenfalls an Gewebeschnitten von Kartoffeln festgestellt, daß nach der Verletzung der VC-Gehalt bis zur 48. Std etwa auf das Zwei- bis Dreifache ansteigt und die Atmung (als Sauerstoffverbrauch nach der Warburgmethode gemessen) sich adäquat erhöht. Genügte die Sauerstoffzufuhr nicht, so verminderte sich die VC-Bildung. In einer Stickstoffatmosphäre blieb die VC-Bildung ganz aus, womit auch meine Beobachtungen übereinstimmen.

Darüber hinaus verwandte SMITH auch Fermentinhibitoren und stellte mit Jodacetat, einem die Glykolyse hemmenden Inhibitor, fest, daß bei steigenden Konzentrationen ($5—20 \times 10^{-5}$ mol) die VC-Synthese zunehmend gehemmt wird, wobei die ursprünglich vorhandenen VC-Mengen verschwanden. Das ist ein weiterer Beweis dafür, daß die Glykolyse und wohl auch ein weiterer Teil des chemischen Atmungsgeschehens irgendwie ursächlich mit dem Synthesevorgang des VC verknüpft ist. Zum anderen aber ergibt sich daraus die Bestätigung, daß die AS auch abgebaut wird. Von der Hemmung wurde der O_2-Verbrauch nicht im adäquaten Ausmaß betroffen wie die anaerobe CO_2-Ausscheidung. SMITH zieht daraus den Schluß, daß die VC-Synthese mit der glykolytischen Phase des Atmungsgeschehens im Zusammenhang stehe. Auf den zu vermutenden biochemischen Ablauf soll jedoch erst im zweiten Teil dieser Arbeit eingegangen werden.

Auch Fluorid, das ebenfalls die Glykolyse hemmt, stoppt die Atmung und die VC-Synthese bei Kartoffelgewebeschnitten vollständig bei einer Konzentration von 0,005 m.

Auf die gleichen Ergebnisse stoßen BHARANI und Mitarbeiter (1953) die mit keimenden Mungobohnen arbeiten. Die Verff. fütterten die Keimlinge mit 1%iger Glucoselösung und beobachteten einen erhöhten VC-Gehalt gegenüber der Kontrolle. Dies ist als Hinweis darauf zu werten, daß die Glucose als eine Vorstufe des VC angesehen werden kann. Bei Einwirkung von Atmungsgiften, wie den die Cytochromoxydase hemmenden Cyaniden oder den die Phosphorylierungsvorgänge beeinträchtigenden Aziden und Dinitrophenol, wurde nicht nur die Atmung erheblich vermindert, sondern auch die VC-Synthese eingestellt.

Zusammenfassend ergibt sich aus den hier dargestellten Versuchen und den zitierten Ergebnissen von SMITH (1952) und BHARANI und Mitarbeitern (1953): Der jeweils ermittelte VC-Gehalt einer Pflanze oder ihrer Organe kennzeichnet den im Augenblick der Bestimmung bestehenden Zustand eines dynamischen Gleichgewichtes zwischen einem VC-bildenden und einem VC-abbauenden Vorgang. Ein Ansteigen des VC-Gehaltes erfolgt, wenn das dynamische Gleichgewicht nach der Seite

der Synthese, ein Abnehmen, wenn es nach der Seite des Abbaues verschoben ist. Die VC-Synthese hängt von Atmungsvorgängen ab und bedarf des Sauerstoffes. Doch vollzieht sie sich nur unter bestimmten Bedingungen (s. zweiten Teil der Arbeit), denn nicht jede Atmungserhöhung schlechthin bedingt zugleich einen Anstieg des VC-Gehaltes. Es gilt dies jedoch für keimende Samen und für Gewebeschnitte, die infolge der Verletzung regenerativ tätig sind. Bei keimenden Samen erhöht sich die Atmung und der VC-Gehalt steigt an. Bei reifenden Samen dagegen sinkt die Atmung ab, zugleich vermindert sich aber auch der VC-Gehalt (Medawara 1950). Trockene Samen atmen nur ganz wenig (Kolkwitz 1901), ihr VC-Gehalt ist ebenfalls, von Sonderfällen abgesehen, sehr gering (Seybold und Mehner 1948). Die Voraussetzung zur VC-Bildung ist eine ausreichende Menge verwertbarer Vorstufen, zu denen die Glucose zählt. Das gilt auch für Gewebeschnitte, bei denen sich im Bestreben zum Wundverschluß die physiologische Aktivität erhöht, wobei die Atmung ansteigt und eine Erhöhung des VC-Gehaltes parallel geht. Mit zunehmendem Wundverschluß durch Bildung eines Wundkorkes z. B. sinkt die Atmung wieder ab, zugleich vermindert sich der VC-Gehalt. Wird die Atmung durch eine Stickstoffatmosphäre oder durch Fermentinhibitoren gehemmt oder durch Anreicherung von CO_2 bzw. Verarmung an O_2 gedrosselt, so setzt auch die VC-Synthese aus oder sinkt im entsprechenden Maße. Je nach dem Grade des VC-Abbaues sinkt der VC-Gehalt mehr oder weniger ab.

Wir dürfen also den Schluß ziehen, daß in den untersuchten Objekten das Atmungsgeschehen Ursache der VC-Bildung, diese daher ein dissimilatorischer Vorgang ist, wobei vermutlich Glykolyseprodukte über einen Seitenweg des chemischen Atmungsgeschehens zu VC umgewandelt werden.

Zusammenfassung.

a) Im Dunklen keimende Samen von *Sinapis alba* zeigen mit steigender CO_2-Ausscheidung einen zunehmenden VC-Gehalt. Die Kurven für CO_2-Abgabe und VC-Gehalt verlaufen anfangs parallel. Von der 72. Std an sinkt die CO_2-Ausscheidung, entsprechend vermindert sich die VC-Neubildung. Sie ist bis zur 120. Std aber immer noch größer als die Oxydation und der Abbau des VC, so daß insgesamt eine Zunahme des VC-Gehaltes resultiert. Danach sinkt der VC-Gehalt allmählich ab.

b) Versuche an Küchenzwiebeln ergeben, daß mit zunehmender Zerkleinerung des Gewebes, d. h. mit wachsender Vermehrung der Wundflächen, die CO_2-Abgabe und die VC-Synthese — letztere jedoch nur bis zu einem Grenzwert der Zerkleinerung — ansteigen. Über den Grenzwert hinaus sind die VC-Verluste infolge Oxydation zu groß, so daß es nicht zu einem geordneten Regenerationsvorgang kommt.

c) Gewebeschnitte von Kartoffeln und Spargel weisen eine weitgehende Proportionalität zwischen CO_2-Abgabe und VC-Gehalt auf.

d) Die VC-Bildung erweist sich als vom Sauerstoff abhängig.

e) Die Ansicht Asselbergs' und Francis', daß die VC-Neubildung bei Kartoffelgewebeschnitten nur scheinbar sei und auf einer Entbindung von AS beruhe, die während der Lagerung der Knollen an Eiweiß gebunden worden sei, wird widerlegt.

f) Die Auffassung, daß die VC-Bildung ein dissimilatorischer Vorgang sei, d. h. mit der Atmung in direktem Zusammenhang stehe, wird diskutiert und bejaht.

Die vorstehende Arbeit wurde durch die Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft ermöglicht, der ich dafür meinen herzlichen Dank ausspreche. Besonderer Dank gebührt Herrn Prof. Dr. A. Seybold, der mir in seinem Institut einen Arbeitsplatz und die Mittel zur Ausführung der Arbeit zur Verfügung stellte. Auch Herrn Dr. Mehner (Heidelberg) danke ich für die methodischen Hinweise, die er mir in Gesprächen gab.

Literatur.

Asselbergs, E. A. M., and F. J. Francis: Canad. J. Bot. **30**, 665 (1952). — Barrenscheen, H. K.: Biochem. Z. **310**, 285 (1941). — Bharani, S. P., Y. S. Shah and A. Sreenivasan: Proc. Indian Acad. Sci., Sect. B **37**, 33 (1953). — Bukatsch, F.: Planta (Berl.) **30**, 118 (1939/40); **31**, 209 (1940/41). — Bünning, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanzen. Berlin: Springer 1953. — Dischendorfer, O.: Protoplasma (Wien) **28**, 516 (1937). — Fellenberg, Th., u. H. Wuhrmann: Mitt. Lebensmittelunters. **33**, 224 (1942). — Franke, W.: Planta (Berl.) **41**, 197 (1953). — Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. II, Ascorbinsäure. Heidelberg: Springer 1954. — Glick, D.: Hoppe-Seylers Z. **245**, 211 (1937).— Guthrie, J.: Contrib. Boyce Thompson Inst. **9**, 17 (1937). — Haberlandt, G.: Sitzgsber. preuß. Akad. Wiss. **16**, 318 (1913). — Beitr. allg. Bot. **2**, H. 1 (1921). — Hagen, U.: Phyton (Horn, N.-Oe.) **4**, 322 (1953). — Hausen, S. v.: Nature (Lond.) **136**, 516 (1935). — Biochem. Z. **288**, 378 (1936). — King, C. G.: Physiologic. Rev. **16**, 238 (1936). — Kolkwitz, R.: Ber. dtsch. bot. Ges. **19**, 285 (1901). — Lauersen, F., u. W. Orth: Z. Unters. Lebensmitt. **83**, 193 (1942). — Mapson, L. W.: Vitamins a. Hormons **11**, 1 (1953). — Marx, Th.: Z. Lebensmittelunters. u. Forsch. **95**, 319 (1952). — Medawara, M. R.: Phyton (Horn, N.Oe.) **2**, 193 (1950). — Moldtmann, H. G.: Planta (Berl.) **30**, 297 (1939/40). — Mommaerts, M.: Z. Vitaminforsch. **13**, 250 (1943). — Neubauer, M.: Protoplasma (Wien) **33**, 345 (1939). — Pett, L. B.: Biochemic. J. **30**, 1228 (1936). — Popovskaja, E. M.: Biochimija **15**, 249 (1950). Zit. nach Ber. wiss. Biol. **71**, 293 (1951). — Raadts, E.: Planta (Berl.) **36**, 103 (1948). — Robertson, T. S.: Austral. J. Exper. Biol. a. Med. Sci. **25**, 41 (1947). — Rubin, B. A., E. V. Arkikhovskaja i T. A. Roskwinikova: Biochimija **11**, 349 (1946). Zit. nach L. W. Mapson 1953. — Sabalitschka, Th., u. J. Marggraff: Apothekerztg **61**, 4 (1949). — Pharmazie **3**, 127 (1948). — Seybold, A., u. H. Mehner: Über den Gehalt von Vitamin C in Pflanzen. Sitzgsber. Heidelbg. Akad. Wiss., Math.-naturwiss. Kl., 10. Abh. **1948**. — Smith, F. G.: Plant Physiol. **27**, 736 (1952). — Stewart, F. C., and G. Preston: Plant Physiol. **15**, 23 (1940). — Virtanen, A.: Experientia (Basel) **5**, 313 (1949). — Weissenböck, K. u. M.: Protoplasma (Wien) **34**, 585 (1940). — Winter, E.: (a) Z. Lebensmittelunters. u. Forsch. **94**, 414 (1952). — (b) Planta (Berl.) **41**, 52 (1952). — Weber, F.: Protoplasma (Wien) **34**, 317 (1940).

Dr. Wolfgang Franke, Bonn a. Rh., Institut für Landwirtschaftliche Botanik, Meckenheimer Allee 176.

Planta, Bd. 44, S. 459—471 (1954).

Aus dem Staatsinstitut für allgemeine Botanik Hamburg.

PERIODISCHE GUTTATION BEI *ZEA MAYS*.

Von

H. ENGEL und I. FRIEDERICHSEN.

Mit 15 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Juli 1954.)

Die Untersuchungen von HEIMANN (1950) an *Kalanchoë Blossfeldiana* und von ENGEL und FRIEDERICHSEN (1951, 1952, 1953) an *Avena sativa* hatten gezeigt, daß die Guttation in hohem Maße durch Licht beeinflußbar ist. Der tagesperiodische Verlauf der Guttation dieser Pflanzen war eine Folge des täglichen Licht-Dunkelwechsels. Auf der Suche nach weiteren Pflanzen, die diesen Rhythmus zeigen, prüften wir unter anderen auch den Mais. Dabei stellte sich heraus, daß diese Pflanze zwar auch periodisch auf den Beleuchtungsrhythmus reagiert, aber in anderer Weise als der Hafer. Während bei diesem — von der ersten Belichtung abgesehen — jeder Wechsel von Dunkelheit nach Licht zu einem Absinken, jeder Wechsel von Licht nach Dunkelheit zu einem Ansteigen der Guttationstätigkeit führte, verhielt sich der Mais gerade umgekehrt. Auch fehlte ihm die endogene Komponente, die beim Hafer dazu führte, daß bei länger als 6 Std anhaltenden Licht-Dunkelperioden ein Umschwung in der Guttationsrichtung eintrat. Die Unterschiede im Verhalten beider Pflanzen waren so auffallend, daß wir ihnen weiter nachgingen und zu den Ergebnissen kamen, die im folgenden geschildert werden.

Methodik.

Sämtliche Versuche wurden im Institutskeller durchgeführt. Dort herrschten einigermaßen konstante Temperaturen, die sich zwischen 16—18° C bewegten. Als Versuchspflanze diente anfangs eine unbekannte Maissorte. Die Hauptversuche wurden mit dem Hybrid-Saatmais US 13/F_1 USA durchgeführt. Die Körner wurden vor der Aussaat 24 Std in Leitungswasser gequollen. Sonst waren Anzucht und Versuchstechnik die gleichen wie bei den früheren Arbeiten mit Hafer. Auch die Messung des Guttationswassers unterschied sich nicht von der bisherigen Methode. Als Lichtquelle dienten zwei Osram-Leuchtröhren zu je 40 Watt, die im Abstand von etwa 40 cm waagerecht über den Pflanzen hingen. Die Lichtintensität betrug in Höhe der Pflanzen unter den Glasglocken etwa 900—1100, außerhalb derselben 1300—1500 Lux. Als „Dunkelheit" während des Licht-Dunkelwechsels diente eine 15 Watt-Lampe mit einem Schott-Rotfilter OG 3. Diese Lampe war an der Wand des Kellers im seitlichen Abstand von 2,20 m und einer Höhe von 1,25 m über den Pflanzen angebracht. Ihre Lichtintensität war mit unserem Luxmeter (AEG, Form K) nicht mehr meßbar. Der Licht-Dunkelwechsel wurde durch eine elektrische Schaltuhr reguliert. Das Alter der Keimlinge betrug bei Versuchsbeginn etwa 8—11 Tage, vom Beginn des Einquellens der Körner gerechnet, ihre Länge ungefähr

2—2,5 cm. Sobald die Koleoptile vom Primärblatt durchstoßen war oder wenige Stunden danach, wurden die Versuche abgebrochen. Die beobachteten Guttationskurven beziehen sich somit fast ausschließlich auf die Koleoptile. In den Abbildungen ist der besseren Übersicht halber jeweils nur eine Auswahl von Einzelkurven gebracht worden. Die Gesamtzahl der bei jedem Versuch untersuchten Pflanzen betrug meistens 8—10.

Experimenteller Teil.

A. Vorversuche.

Zunächst prüften wir das Verhalten von Keimlingen, die in völliger Dunkelheit aufgelaufen waren und dann erstmalig belichtet wurden. Wie Abb. 1 erkennen läßt, nahm die Guttationsintensität aller Pflanzen nach Einschalten des Lichtes stark zu. In der Dunkelheit guttierten die Keimlinge entweder wenig oder überhaupt nicht. Als der Versuch nach 10 Std abgebrochen wurde, lag die Guttationsintensität durchschnittlich etwa 400% höher als am Anfang.

Der Versuch wurde mehrfach wiederholt, immer mit dem gleichen Ergebnis. Die Durchschnittskurven von 4 Versuchen sind in Abb. 2 zusammengestellt. Vergleicht man mit dem Hafer, dessen Guttationskurve unserer Arbeit von 1952 (Durchschnitt der dortigen Kurven aus Abb. 4) entnommen ist, erkennt man den großen Unterschied zwischen beiden Pflanzen. Während der Hafer auf das Licht mit einer stark ausgeprägten Guttationswelle reagierte, stiegen die Kurven beim Mais fast stetig an. Der Aufstieg war jedoch in den ersten 3—5 Std steiler als später. Die danach zu beobachtende Abschwächung führte nur bei einigen Pflanzen (Abb. 1) zu einem tatsächlichen Absinken. Es wurde also eine Guttationswelle ausgelöst, deren Maximum allerdings kaum hervortrat.

Auch wenn die Pflanzen in schwachem Rotlicht keimten und nicht in absoluter Dunkelheit, war nach Einschalten des hellen Lichtes dieser Impuls festzustellen (Abb. 3). Schwaches Rotlicht verhielt sich wie Dunkelheit. Wie beim Hafer genügte wahrscheinlich nur ein Lichtintensitätswechsel, um die Guttationswelle auszulösen.

Das zeigte auch der folgende Versuch. Bei diesem keimten die Pflanzen in völliger Dunkelheit, dann wurde für einige Stunden rotes Licht eingeschaltet und im Anschluß daran weißes. Wie man sieht (Abb. 4), wurde in beiden Fällen eine Guttationswelle ausgelöst, die nach Einschalten des weißen Lichtes allerdings wesentlich stärker war, eine Folge wahrscheinlich der größeren Lichtmenge.

Nach Beendigung des Versuches kamen die Pflanzen in völlige Dunkelheit zurück. Sie verblieben darin 48 Std. Sodann wurde wieder rotes und einige Stunden später weißes Licht eingeschaltet. Da bei 4 Exemplaren das Primärblatt bereits die Koleoptile durchbrochen hatte, wurden sie durch vier andere ersetzt, bei denen das noch nicht der Fall war.

Das Ergebnis (Abb. 5) bestätigte das vorher beobachtete Bild. Die Einschaltung des Rotlichts rief eine deutlich ausgeprägte Guttationswelle hervor, deren Maximum nach 3—5 Std erreicht war. Danach verminderte sich bei allen Pflanzen die Intensität der Wasserabscheidung wieder. Die Einschaltung des weißen Lichts führte dann zu einem erneuten, bedeutend stärkeren Impuls, dessen Maximum ebenfalls 3—4 Std nach dem Beleuchtungswechsel eintrat. Obwohl die absolute Höhe der Guttation bei allen Keimlingen verschieden war, zeigten doch alle denselben Rhythmus.

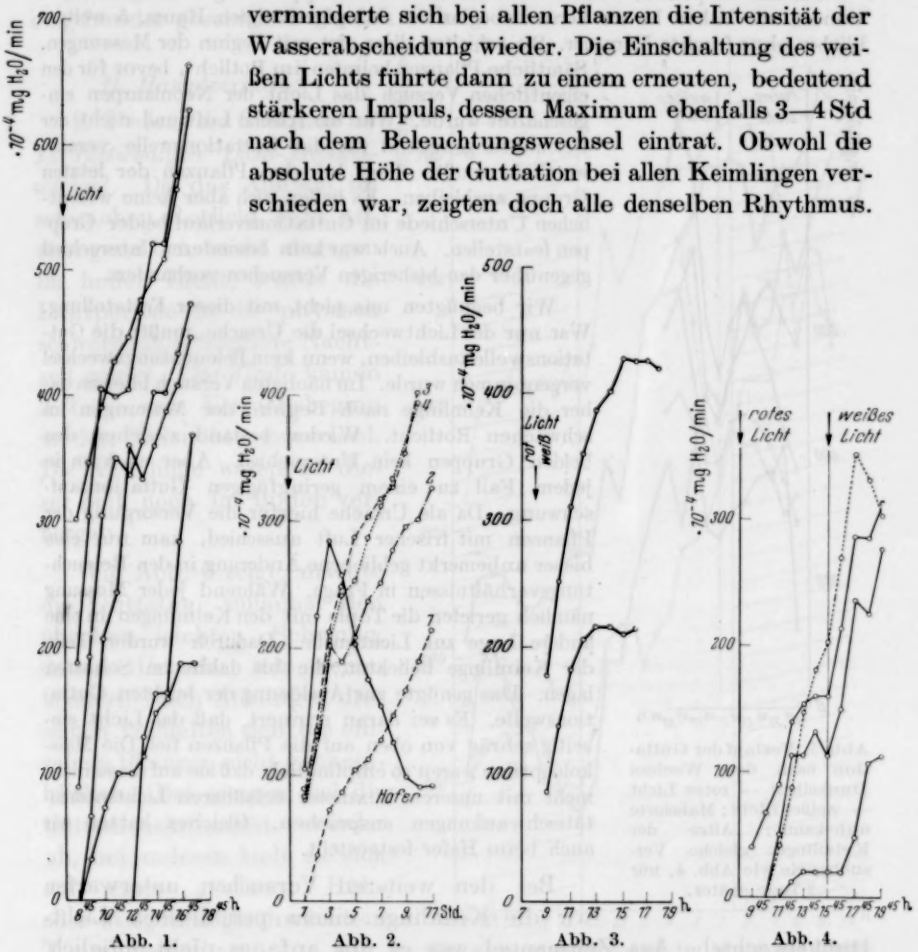

Abb. 1. Abb. 2. Abb. 3. Abb. 4.

Abb. 1. Verlauf der Guttation nach dem Wechsel Dunkelheit → Licht; Maissorte unbekannt; Alter der Keimlinge: 9 Tage, 15 Std.

Abb. 2. Verlauf der Guttattion nach dem Wechsel Dunkelheit → Licht; Durchschnittskurven; Maissorte unbekannt; Hafer s. Arbeit ENGEL und FRIEDERICHSEN (1952).

Abb. 3. Verlauf der Guttation nach dem Wechsel rotes Licht → weißes Licht; Durchschnittskurven; Maissorte unbekannt.

Abb. 4. Verlauf der Guttation nach dem Wechsel Dunkelheit → rotes Licht → weißes Licht; Maissorte unbekannt; Alter der Keimlinge: 13 Tage, 19 Std.

Bei den bisher geschilderten Versuchen keimten die Pflanzen im dampfgesättigten Raum, und sie blieben darin 4—5 Tage bis zum Versuchsbeginn. Erst dann wurden die feuchten Kammern für die kurze Zeit der Messung erstmalig abgehoben.

Hiermit war zwangsläufig eine Erneuerung der Luft in den Kammern verbunden. Es bestand die Möglichkeit, daß diese Zufuhr frischer Luft den regelmäßigen Anstieg der Guttationsintensität ausgelöst hatte.

Um das zu prüfen, wurden die Pflanzen in 2 Gruppen eingeteilt. 5 Pflanzen standen wie bisher bis zu Versuchsbeginn im dampfgesättigten Raum, 5 weitere blieben ohne feuchte Kammer. Sie erhielten diese erst mit Beginn der Messungen.

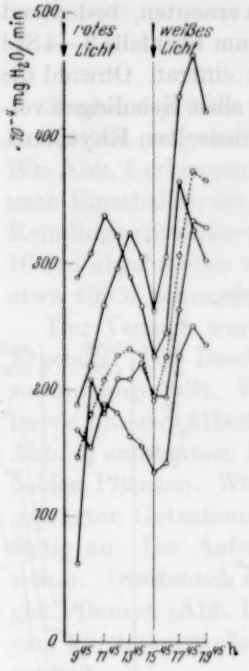

Abb. 5. Verlauf der Guttation nach dem Wechsel Dunkelheit → rotes Licht → weißes Licht; Maissorte unbekannt; Alter der Keimlinge: gleiche Versuchsserie wie Abb. 4, nur 2 Tage später.

Sämtliche Pflanzen keimten im Rotlicht, bevor für den eigentlichen Versuch das Licht der Neonlampen eingeschaltet wurde. War die frische Luft und nicht der Beleuchtungswechsel für die Guttationswelle verantwortlich, mußte diese bei den Pflanzen der letzten Gruppe ausbleiben. Es ließen sich aber keine wesentlichen Unterschiede im Guttationsverlauf beider Gruppen feststellen. Auch war kein besonderer Unterschied gegenüber den bisherigen Versuchen vorhanden.

Wir begnügten uns nicht mit dieser Feststellung. War nur der Lichtwechsel die Ursache, mußte die Guttationswelle ausbleiben, wenn kein Beleuchtungswechsel vorgenommen wurde. Im nächsten Versuch blieben daher die Keimlinge nach Beginn der Messungen im schwachen Rotlicht. Wieder bestand zwischen den beiden Gruppen kein Unterschied. Aber es kam in jedem Fall zu einem geringfügigen Guttationsaufschwung. Da als Ursache hierfür die Versorgung der Pflanzen mit frischer Luft ausschied, kam nur eine bisher unbemerkt gebliebene Änderung in den Beleuchtungsverhältnissen in Frage. Während jeder Messung nämlich gerieten die Töpfe mit den Keimlingen in eine andere Lage zur Lichtquelle. Dadurch wurden Teile der Keimlinge belichtet, die bis dahin im Schatten lagen. Das genügte zur Auslösung der leichten Guttationswelle. Es sei daran erinnert, daß das Licht einseitig schräg von oben auf die Pflanzen fiel. Die Maiskoleoptilen waren so empfindlich, daß sie auf diese nicht mehr mit unserem Luxmeter erfaßbaren Lichtintensitätsschwankungen ansprachen. Gleiches hatten wir auch beim Hafer festgestellt.

Bei den weiteren Versuchen unterwarfen wir die Keimlinge einem periodischen Licht-Dunkelwechsel. Aus Zeitmangel war es uns anfangs nicht möglich, die Guttation über längere Zeiträume zu verfolgen. Hatten die im periodischen Licht-Dunkelwechsel herangewachsenen Keimlinge die gewünschte Größe erreicht, wurde die Guttation für einige Stunden gemessen, wobei es uns lediglich auf die Zeit vor und nach der Lichtumschaltung ankam. Durch Kombination der so erhaltenen Kurvenstücke mußten Rückschlüsse auf den Gesamtverlauf der Guttation über längere Zeitabschnitte möglich sein. Diese Vorversuche zeigten bereits, daß die Guttation von Zea Mays auf jeden Wechsel von Dunkelheit nach Licht mit einem Anstieg reagierte, während der Wechsel von

Licht nach Dunkelheit umgekehrt wirkte. Der Zusammenhang zwischen Beleuchtungswechsel und Guttationsrhythmus trat aber erst in den langfristigen Versuchen klar zutage, so daß im folgenden nur diese eingehender geschildert werden sollen.

B. Hauptversuche.

1. *Verlauf der Guttation im 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel.* Da das Ablesen im schwachen Rotlicht sehr anstrengend ist, nicht dagegen im hellen Licht, wurde die Lichtperiode in die physisch schwerer zu ertragende Nachtzeit gelegt. Die Töpfe kamen 2 Tage vor Versuchsbeginn in den Beleuchtungswechsel. Die Keimlinge waren zu dieser Zeit noch im Boden verborgen.

Wie Abb. 6 zeigt, machte die Guttation zunächst den üblichen leichten Schwung, dessen Ursache wir schon kennen. Nach Abklingen desselben verhielten sich die einzelnen Pflanzen nicht ganz einheitlich. Bei einigen fiel die Guttationsintensität wieder ab, bei anderen hielt sie sich auf einer gewissen Höhe oder stieg in abgeschwächtem Tempo weiter an.

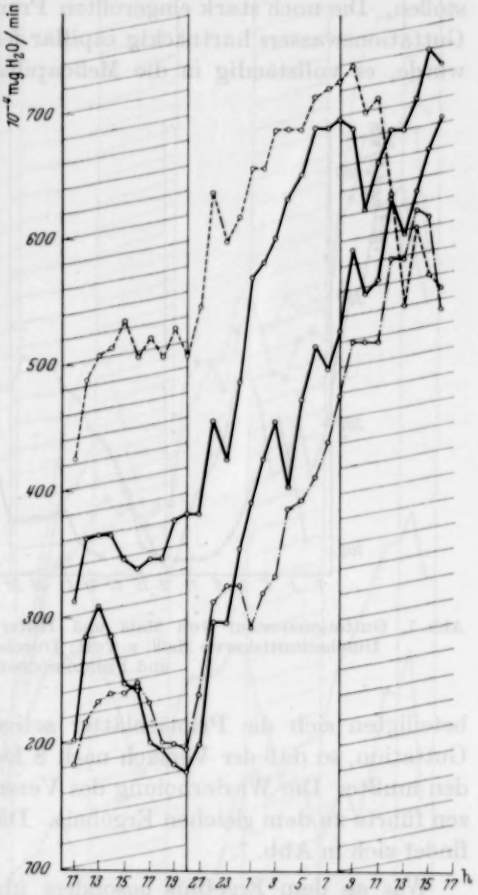

Abb. 6. Guttationsverlauf im 12:12 Std Licht-Dunkelwechsel; Maissorte US 13; Alter der Keimlinge 11 Tage.

Erst die Einschaltung des weißen Lichtes führte bei allen Pflanzen zu einer beträchtlichen Steigerung, die gleich nach Beginn der Lichtperiode am stärksten war. Diese Aktivierung hielt während der ganzen Lichtperiode mehr oder weniger an. Die erneute Einschaltung der Dunkelheit bremste diesen Aufstieg wieder ab. Die Hemmung führte bei einigen Pflanzen zu einem tatsächlichen Abstieg, bei anderen verlangsamte sich nur, wenigstens vorübergehend, das Tempo des Aufstiegs.

Auffallend war der immer sprunghafter werdende Verlauf der Kurven während der zweiten Dunkelperiode. In diesen Kurvenzacken kam eine Fehlerquelle zum Ausdruck, die sich nicht beseitigen ließ. Während der langen Versuchszeit hatten die meisten Keimlinge die Koleoptile durchstoßen. Die noch stark eingerollten Primärblätter hielten einen Teil des Guttationswassers hartnäckig capillar fest, so daß es immer schwieriger wurde, es vollständig in die Meßcapillaren zu bekommen. Außerdem

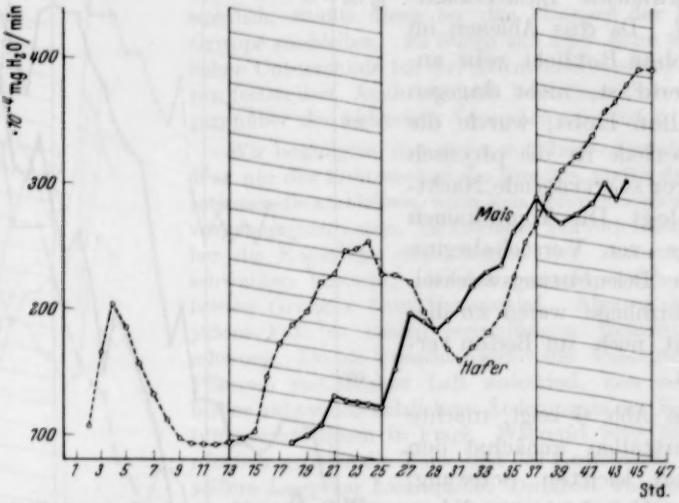

Abb. 7. Guttationsverlauf von Mais und Hafer im 12:12 Std Licht-Dunkelwechsel; Durchschnittskurve Mais: s. Text; Durchschnittskurve Hafer: s. Engel und Friederichsen (1952).

beteiligten sich die Primärblätter selbst in steigendem Maße an der Guttation, so daß der Versuch nach 8 Dunkelstunden abgebrochen werden mußte. Die Wiederholung des Versuchs mit etwas kleineren Pflanzen führte zu dem gleichen Ergebnis. Die Durchschnittskurve desselben findet sich in Abb. 7.

Was an dem Ergebnis besonders überraschte, war das Ausbleiben eines endogenen Umschwungs der Guttation im Verlauf der langen Licht- bzw. Dunkelperioden. Beim Hafer (Abb. 7) wie auch bei *Kalanchoë* (Heimann 1950) trat etwa 6—8 Std nach jedem Beleuchtungswechsel eine innere Umstellung der Guttationsrichtung ein. Diese endogene Komponente fehlte beim Mais. Während der ganzen Lichtperiode z. B. änderte sich die steigende Tendenz der Guttationsintensität nicht.

2. *Der Verlauf der Guttation im 6:6 Std-Rhythmus.* Die Keimlinge verhielten sich im 6:6stündigen Licht-Dunkelwechsel (Abb. 8) nicht anders als im 12:12 Std-Cyclus. Wurde das Licht eingeschaltet, machte sich sogleich eine starke Guttationswelle bemerkbar, die nach 2—4 Std

Dauer an Intensität verlor. Die Tendenz der Guttation blieb jedoch während der ganzen Lichtperiode steigend. Wurde das Licht abgeschaltet, trat meistens sofort eine Verlangsamung ein, die fast regelmäßig zu einem tatsächlichen Absinken der Guttationsintensität führte. Im Licht war der Anstieg meistens stärker als der entsprechende Abfall im Dunkeln, wahrscheinlich eine Folge der allgemein zunehmenden Tendenz der Guttation infolge des Wachstums. Der Einfluß des Beleuchtungswechsels wurde durch Wachstumseinflüsse überlagert. So ist es zu erklären, daß sich die Hemmung durch Einschalten der Dunkelheit nicht immer in einer tatsächlichen Abnahme der Guttationswerte äußerte, sondern manchmal nur in einer Verlangsamung des Aufstiegs oder in einem „Auf der Stelle treten". Auch die Bremswirkung der Dunkelheit war meistens in den ersten Stunden nach Abschalten des Lichts am stärksten. Sie schwächte sich später mehr und mehr ab.

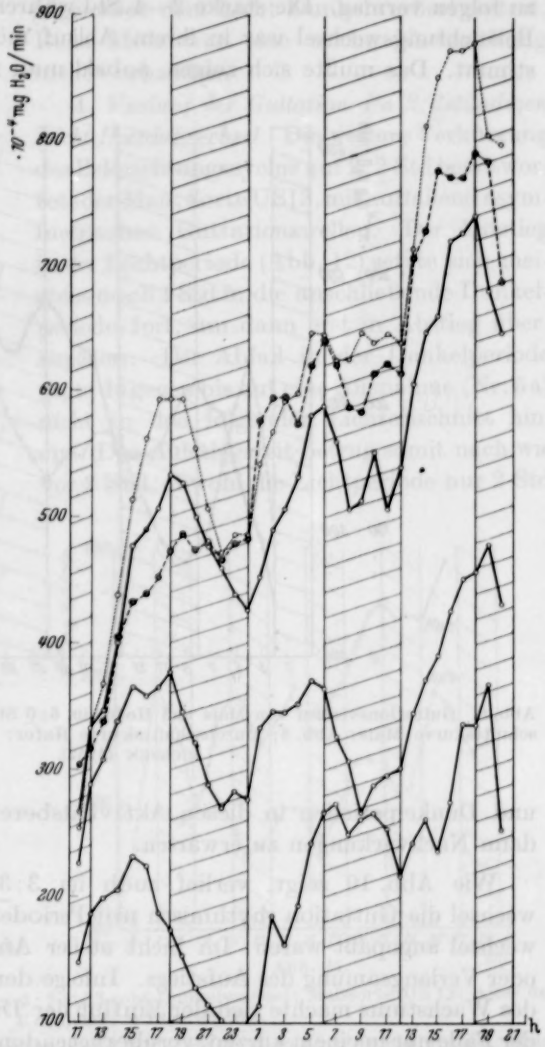

Abb. 8. Guttationsverlauf im 6:6 Std Licht-Dunkelwechsel; Maissorte US 13; Alter der Keimlinge: 8 Tage.

Im 6:6stündigen Cyclus verhielt sich somit der Mais umgekehrt wie der Hafer, bei dem jede Umschaltung von Dunkelheit nach Licht zu einem Absinken, jeder Wechsel von Licht nach Dunkelheit zu einem Ansteigen der Wasserabsonderung der Koleoptile führte. Die Kurven der beiden Pflanzen verhalten sich wie Bild und Spiegelbild (s. Abb. 9).

3. *Verlauf der Guttation im 3:3stündigen Licht-Dunkelwechsel.* Uns interessierte naturgemäß die Frage, wie weit der Guttationsrhythmus der Maiskoleoptile der weiteren Verkürzung der Licht-Dunkelperioden zu folgen vermag. Die starke 2—4 Std währende Aktivität nach jedem Beleuchtungswechsel war in ihrem Ablauf möglicherweise endogen bestimmt. Das mußte sich zeigen, sobald man mit der Länge der Licht-

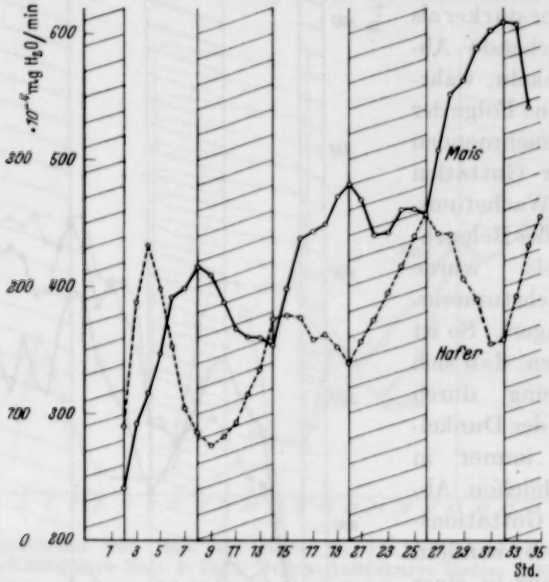

Abb. 9. Guttationsverlauf von Mais und Hafer im 6:6 Std Licht-Dunkelwechsel; Durchschnittskurve Mais: Abb. 8; Durchschnittskurve Hafer: s. Arbeit Engel und Friederichsen (1952).

und Dunkelperioden in diesen Aktivitätsbereich einrückte. Es waren dann Nachwirkungen zu erwarten.

Wie Abb. 10 zeigt, verlief auch im 3:3stündigen Licht-Dunkelwechsel die Guttation rhythmisch mit Perioden, die dem Beleuchtungswechsel angepaßt waren: Im Licht steiler Anstieg, im Dunkeln Abfall oder Verlangsamung des Aufstiegs. Infolge der überlagernden Wirkung des Wachstums machte sich der Einfluß der Dunkelheit in der Mehrzahl der Fälle nur in einem kurzen, vorübergehenden Absinken der Guttationsintensität bemerkbar. Im einzelnen waren manche Unregelmäßigkeiten vorhanden, in großen Zügen war das Bild jedoch das gleiche wie bei den längeren Beleuchtungscyclen. Die Wiederholung des Versuchs mit kleineren Keimlingen der unbekannten Maissorte bestätigte das gewonnene Bild. Abb. 11 veranschaulicht die Durchschnittskurven dieser Wiederholung.

Auch der 3:3 Std Licht-Dunkelwechsel wirkte somit umgekehrt wie beim Hafer. Die beiden Kurven (Abb. 11) unterscheiden sich außerdem dadurch, daß beim Hafer eine Verzögerung des Guttationsrhythmus gegenüber dem Licht-Dunkelwechsel eintrat. Beim Mais war eine solche Nachwirkung nicht vorhanden.

4. *Verlauf der Guttation im 2:2stündigen Licht-Dunkelwechsel.* Die weitere Verkürzung des Beleuchtungscyclus auf 2:2 Std beantwortete der Mais, Sorte US13, mit auffallend asymmetrischen Guttationswellen. Der Aufstieg in der Lichtperiode (Abb. 12) setzte sich meistens noch 1 Std in die anschließende Dunkelperiode fort, um dann erst in Abstieg überzugehen. Der Abfall in der Dunkelperiode ragte dagegen bis auf eine Ausnahme (Nr. 5a) nicht in den folgenden Lichtabschnitt hinein. Die Aufstiegszeit betrug somit nach wie vor 3 Std, obwohl die Lichtperiode nur 2 Std

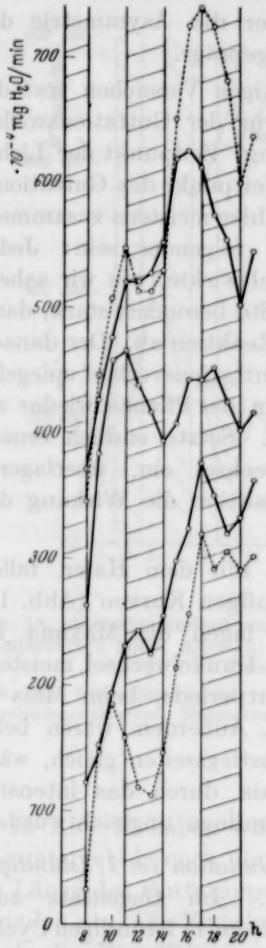

Abb. 10.

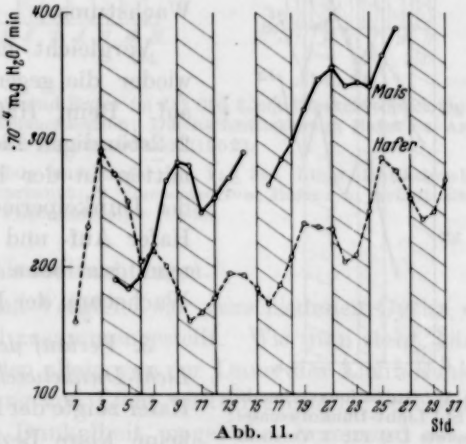

Abb. 11.

Abb. 10. Guttationsverlauf im 3:3 Std Licht-Dunkelwechsel; Maissorte US 13; Alter der Keimlinge: 8 Tage, 15 Std.

Abb. 11. Guttationsverlauf von Mais und Hafer im 3:3 Std Licht-Dunkelwechsel; Maissorte unbekannt; die 12stündige Unterbrechung verkürzt gezeichnet; Durchschnittskurve Hafer: s. Arbeit ENGEL und FRIEDERICHSEN (1952).

dauerte. Die Abstiegszeit war hingegen durchweg nur 1 Std lang anstatt 2. Diese Asymmetrie der Guttationswellen, die sich bereits im 3:3 Std-Cyclus anbahnte, war offenbar die Folge des stürmischen Wachstums der Keimlinge, das den Wellenaufstieg überhöhte und

verlängerte, den Abstieg bremste und verkürzte. In Wirklichkeit dürften sich auch die Guttationswellen im 2:2 Std-Rhythmus bewegt haben. Die Wiederholung des Versuches brachte eine Bestätigung. Auch die unbekannte Maissorte verhielt sich ähnlich, nur war bei dieser die Asymmetrie der Wellen weniger ausgeprägt.

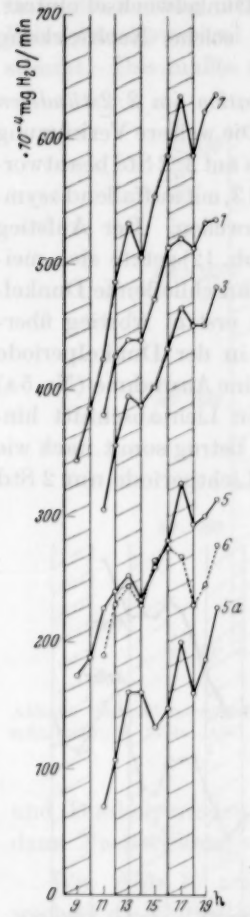

Abb. 12. Guttationsverlauf im 2:2 Std Licht-Dunkelwechsel; Maissorte US 13; 2 Versuchsserien; Alter der Keimlinge: 8 bzw. 9 Tage.

In den langfristigen Versuchen trat die asymmetrische Form der Guttationswellen kaum in Erscheinung. Zeitpunkt der Lichtumschaltung und Zeitpunkt des Guttationsumschwungs fielen hier meistens zusammen. Der Grund dürfte folgender sein: Jeder Beleuchtungswechsel wirkte, wie wir sahen, in den ersten 2—4 Std besonders stark, dann klang die primäre Reaktion ab. Der danach zu beobachtende Guttationsverlauf spiegelte mehr das Wachstum der Pflanze wieder als den Lichtrhythmus. Setzte endlich erneut ein Beleuchtungswechsel ein, überlagerte dessen primäre Reaktion die Wirkung des Wachstums.

Vergleicht man mit dem Hafer, fallen wieder die gegenläufigen Kurven (Abb. 13) auf. Beim Hafer lagen die Maxima im 2:2stündigen Licht-Dunkelwechsel meistens mitten in der Lichtperiode, beim Mais in der Dunkelperiode. Außerdem waren beim Hafer Auf- und Abstiegszeiten gleich, während sie beim Mais durch das intensive Wachstum der Keimlinge ungleich wurden.

5. *Verlauf der Guttation im 1:1stündigen Licht-Dunkelwechsel.* Im Gegensatz zum Hafer zeigte der Mais im 1:1stündigen Cyclus keine klare Beziehung mehr zum Beleuchtungswechsel (Abb. 14). Zwar war den Kurven anzusehen, daß die Pflanze auch jetzt noch auf den Beleuchtungswechsel reagierte, aber die Amplituden waren zu gering und auch zu uneinheitlich, als daß man ihnen größeren Wert beimessen könnte (Einzelkurven daher nicht gezeichnet). In der überwiegenden Zahl der Fälle machte sich in der Dunkelheit ein leichter Anstieg, in der Lichtperiode ein leichter Abstieg bemerk-

bar. Es handelte sich offenbar um Nachwirkungen der jeweils vorangegangenen Beleuchtungsperioden. Insgesamt jedoch hoben sich die Wirkungen von Licht- und Dunkelwechsel auf, so daß kein Rhythmus zustande kam.

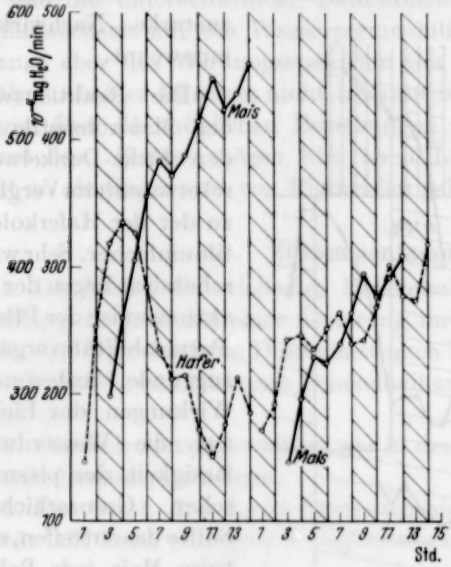

Abb. 13.

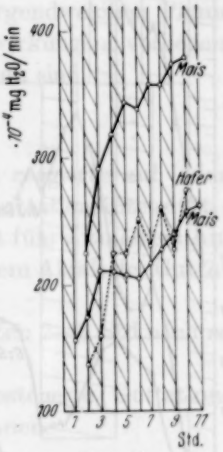

Abb. 14.

Abb. 13. Guttationsverlauf von Mais und Hafer im 2:2 Std Licht-Dunkelwechsel; Durchschnittskurven Mais: Abb. 15; 2 Versuchsserien; Durchschnittskurven Hafer: s. Arbeit Engel und Friederichsen (1952).

Abb. 14. Guttationsverlauf von Mais und Hafer im 1:1 Std Licht-Dunkelwechsel; Durchschnittskurven; Maissorte unbekannt; 2 Versuchsserien; Hafer: s. Arbeit Engel und Friederichsen (1952).

Schlußbetrachtungen.

In Abb. 15 haben wir zum Vergleich der verschiedenen Cyclen das Gesamtergebnis noch einmal zusammengestellt. Wie man sieht, hängt die Länge der Guttationswellen allein von der Dauer der Licht-Dunkelperioden ab. Die Einschaltung von Licht wirkt regelmäßig beschleunigend, die Einschaltung von Dunkelheit umgekehrt hemmend auf die Intensität der Guttation. Im langfristigen 12:12 Std-Rhythmus fällt die Wellennatur der Wasserausscheidung allerdings kaum auf, da jeder Beleuchtungswechsel eben nur in den ersten 2—4 Std besonders wirksam ist, und die endogene Umkehr fehlt, die für den Hafer so bezeichnend ist. Außerdem überlagert das Wachstum der Keimlinge in seiner Auswirkung auf die Guttation den Rhythmus. Dieser wird daher um so deutlicher, je kürzer die Licht-Dunkelperioden sind, z. B. im 6:6 und 3:3 Std-Cyclus. Sinken die Licht-Dunkelabschnitte unter 2 Std in den Bereich höchster

Wirksamkeit des Beleuchtungswechsels ab, treten Störungen auf, die den Guttationsrhythmus schließlich nicht mehr klar hervortreten lassen, z. B. im 1:1 Std-Cyclus. Die entgegengesetzt gerichteten Wirkungen von Ein- und Ausschaltung des Lichtes heben sich hier weit-gehend auf, ein Zeichen dafür, daß dem Lichtwechsel keine allzustarke Nachwirkung innewohnt.

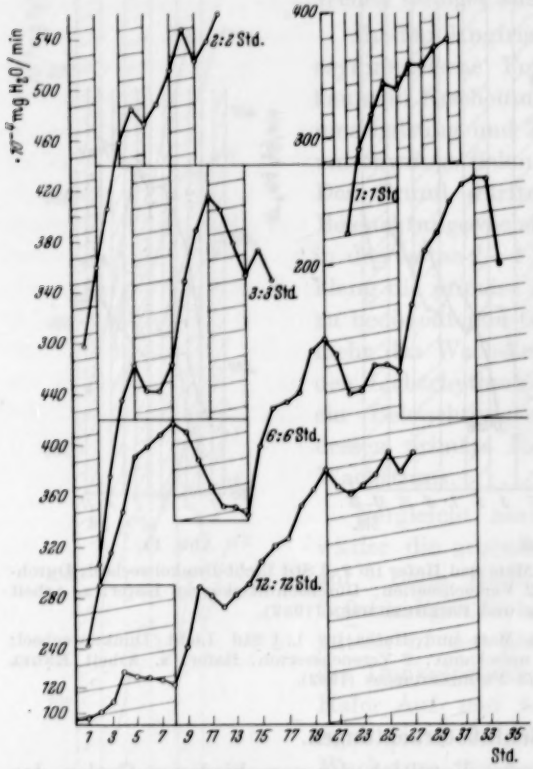

Abb. 15. Durchschnittskurven des 1:1, 2:2, 3:3, 6:6 und 12:12 Std Licht-Dunkelwechsels.

Die Reaktionsweise der Maiskoleoptile auf den Licht-Dunkelwechsel erscheint im Vergleich zu der der Haferkoleoptile einfacher. Sehr wahrscheinlich liegen der Reaktionsweise der Pflanze Permeabilitätsvorgänge zugrunde, insbesondere Wirkungen des Lichtes auf die Wasserdurchlässigkeit der plasmatischen Grenzschichten. Sollte das zutreffen, muß beim Mais jede Belichtung die Wasserpermeabilität erhöhen, beim Hafer herabsetzen. Jede Verdunkelung muß umgekehrt wirken. Das würde beim Hafer aber nur für nicht länger als etwa 6—8 Std dauernde Licht- und Dunkelperioden zutreffen. Wird diese Zeitspanne überschritten, verhalten sich beide Pflanzen übereinstimmend. Im 12:12 Std Licht-Dunkelwechsel z. B. steigt auch beim Hafer die Guttationsintensität an, sobald länger als etwa 6 Std belichtet wird. Der Unterschied ist nur der, daß der Aufstieg endogen herbeigeführt wird, während beim Mais eine endogene Komponente des Guttationsrhythmus nicht erkennbar ist.

Es fragt sich nun, worauf das unterschiedliche Verhalten der beiden Pflanzen zurückzuführen ist. Koski, French und Smith (1951) fanden bei etiolierten Maispflanzen, daß das Verhältnis der Wirkungsspektren blauen und roten Lichtes für die Umwandlung von Protochlorophyll in Chlorophyll 0,66 beträgt. Frank (1946) erhielt dagegen bei etiolierten

Haferkeimlingen 1,47. Hier war also das blaue Licht wesentlich wirksamer als beim Mais. Das mag an der verschiedenen Versuchstechnik gelegen haben, wie Koski und Mitarbeiter vermuten. Nicht ausgeschlossen ist jedoch, daß der Pigmentgehalt beider Pflanzen verschieden ist, und die unterschiedliche Reaktionsweise des periodischen Licht-Dunkelwechsels auf die Wasserpermeabilität hierin ihre Ursache hat. Solange aber das Wirkungsspektrum des Lichtes für den Guttationsrhythmus beider Pflanzen nicht bekannt ist, hat es wenig Sinn, Erörterungen über die möglichen Beziehungen zu irgendwelchen Pigmenten anzustellen. Zudem mögen hier auch Lichtwirkungen vorliegen, die nicht an die Gegenwart von Pigmenten gebunden sind.

Zusammenfassung.

1. Die Koleoptile etiolierter Maiskeimlinge reagierte auf jeden Beleuchtungswechsel mit einer Änderung ihrer Guttationsintensität.

2. Jeder Wechsel von Dunkelheit nach Licht führte zu einem Anstieg, jeder Wechsel von Licht nach Dunkelheit zu einem Abfall der Guttationstätigkeit.

3. Der Beleuchtungswechsel war in den ersten 2—3 Std nach seinem Eintritt besonders wirksam.

4. Die durch den Licht-Dunkelwechsel gesteuerte Guttationsperidizität läßt keine endogene Komponente erkennen.

Die Untersuchungen wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Literatur.

Engel, H., u. I. Friederichsen: Das Licht als Ursache periodischer Guttationsschwankungen etiolierter Haferkeimlinge. Planta (Berl.) **39**, 309—337 (1951). — Weitere Untersuchungen über periodische Guttation etiolierter Haferkeimlinge. Planta (Berl.) **40**, 529—549 (1952). — Frank, S.: J. Gen. Physiol. **29**, 157 (1946). Zit. nach Koski. — Friederichsen, I., u. H. Engel: Lichtguttationsreaktion und Turgordehnung. Ber. dtsch. bot. Ges. **66**, 377—380 (1953). — Heimann, M.: Einfluß periodischer Beleuchtung auf die Guttationsrhythmik. Planta (Berl.) **38**, 157—195 (1950). — Koski, V. M., C. S. French and I. H. C. Smith: The action spectrum for the transformation of protochlorophyll to chlorophyll a in normal and albino corn seedlings. Arch. of Biochem. **31**, 1—17 (1951).

Prof. Dr. H. Engel, und Dr. J. Friederichsen, Staatsinstitut für allgemeine Botanik, Hamburg 36, Jungiusstr. 6/8.

Planta, Bd. 44, S. 472—490 (1954).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Kiel.

CYTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN EINER FERTILEN TRIPLOIDEN ROSE.

Von

H. D. Wulff.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 29. Juli 1954.)

A. Einleitung.

Seitdem Täckholm (1920, 1922) erstmals triploide Rosen auffand, ist ihr meiotisches Verhalten außer von Erlanson (1929, 1933) nie wieder untersucht worden, doch ergeben sich schon aus den wenigen vorliegenden Daten recht erhebliche Unterschiede für die Chromosomenpaarung. Täckholm (1920, 1922) fand bei seinen Triploiden überwiegend eine Syndese der 21 somatischen Chromosomen zu $7_{II} + 7_{I}$ (neben $6_{II} + 9_{I}$), und nach Erlanson (1929) wäre hier *R. palustris* × *carolina* mit $7_{II} + 7_{I}$ anzuschließen. Für *R. blanda* × *carolina* berichtete Erlanson gleichzeitig über hohe Asyndese (1929, S. 468): „Some cells show seven pairs of conjugating chromosomes, although fewer usually appear, and in a few cells the affinity is so weak that all twenty-one appear as distinct units . . .". Beide genannten Forscher äußerten sich dahingehend, daß diese von ihnen beobachteten Syndesekonfigurationen durch den interspezifischen Ursprung ihrer Triploiden bedingt seien.

Später ermittelte Erlanson (1933) für triploide Exemplare von *R. blanda*, *R. Macounii* und *R. pisocarpa* hohe Prozentsätze von trivalenten Chromosomengruppen in den Diakinesen und Metaphasen I; bei *R. Macounii* stellte sie z. B. an 10 Diakinesekernen dreimal Paarung zu 7_{III}, fünfmal zu $6_{III} + 1_{II} + 1_{I}$ und zweimal zu $5_{III} + 2_{II} + 2_{I}$ fest. Diese Trivalentbildung betrachtete die amerikanische Forscherin als kennzeichnend für die intraspezifische Entstehung der betreffenden triploiden Rosen.

Nachdem Fagerlind (1945) sich für eine hohe Autogenomatie aller Rosengenome ausgesprochen hatte, mußte es jedoch als fraglich erscheinen, ob die von Täckholm und Erlanson herausgestellten Zusammenhänge zwischen Ursprung und Syndese einer Überprüfung an weiteren triploiden Rosen standhalten würden. Das erste Ergebnis einer solchen Überprüfung kann im folgenden mitgeteilt werden. Als Objekt diente ein triploides Individuum (Sämling Nr. 83) aus der Kreuzung *R. multiflora* Thbg. × (*R. canina* L. × *R. coriifolia* Fries var. *Froebelii* Rehd.). Während die bisher untersuchten triploiden Rosen Abkömmlinge von *Rosa-*

Artén mit normaler Meiosis waren, geht der Sämling Nr. 83 auf eine Nichtcaninae-Rose und einen Caninae-Bastard als Eltern zurück. Im einzelnen wird seine genomatische Konstitution noch zu diskutieren sein; sie ist jedenfalls besonders bemerkenswert, weil sie auf dem Zusammentritt von Genomen beruht, wie sie unterschiedlicher innerhalb der Gattung *Rosa* nicht zu finden sind. Zur Entscheidung der oben aufgeworfenen Frage mußte also das Studium der Chromosomenpaarung beim Sämling Nr. 83 besonders aufschlußreich sein.

Doch verdient der Sämling Nr. 83 nicht nur wegen seiner Abstammung Interesse, sondern auch wegen seiner hohen Fertilität. Lediglich Erlanson (1929) machte bisher Angaben über Hagebuttenansatz triploider Rosen: *R. palustris* × *carolina* bildete sehr selten 1—2 kleine Butten mit je 1—2 Nüßchen aus, während *R. blanda* × *carolina* „a crop of good hips and achenes" erzeugte (1929, S. 470). Beobachtungen über die Keimfähigkeit der Nüßchen oder gar die Chromosomenzahl eventueller Nachkommen wurden von Erlanson allerdings nicht mitgeteilt. Für den Sämling Nr. 83 können sie dagegen neben den Daten über die Syndese und Mikrosporogenese im folgenden gegeben werden.

Das hier ausgewertete Untersuchungsmaterial verdanke ich dem liebenswürdigen Entgegenkommen der Rosenzüchter Mathias Tantau sen. † und Mathias Tantau jr. (Firma Math. Tantau, Uetersen in Holstein). Die folgenden Ausführungen über die Mikrosporogenese stützen sich auf 12 Blütenknospen geeigneten Stadiums. Sie wurden in den Jahren 1952 und 1953 nach Carnoy fixiert, unter Anwendung der Paraffinmethode 15 μ dick geschnitten und nach Heidenhain gefärbt. Bei den Wurzelspitzen der Sämlinge 83-I und 83-II wurde ebenso verfahren, nachdem jedoch die Fixierung nach Nawaschin vorgenommen worden war. — Für Hilfeleistungen danke ich Frau cand. rer. nat. Irmgard Haken; für die Gewährung einer Sachbeihilfe gebührt der Deutschen Forschungsgemeinschaft mein besonderer Dank.

B. Zur Morphologie des triploiden Sämlings Nr. 83.

Über die Herkunft und die Abstammung der Bastardindividuen *R. multiflora* × (*R. canina* × *coriifolia* var. *Froebelii*) — auch als *R. multiflora* × „327" bezeichnet — wurden früher bereits eingehende Angaben gemacht (Wulff 1952). Der Sämling Nr. 83 trat spontan neben einer Mehrzahl von Diploiden auf. Von insgesamt 28 in den Jahren 1952—1954 überlebenden Pflanzen aus der obigen Kreuzung zeichneten sich 25 diploide Individuen durch intermediäre Merkmalsausprägung, die Sämlinge Nr. 72, 73 und 83 durch starke *multiflora*-Ähnlichkeit aus. Bei dem letztgenannten Sämling kann sie aus seiner unten noch weiter zu erläuternden genomatischen Konstitution verstanden werden; in den diploiden Sämlingen Nr. 72 und 73 liegen sicherlich keine Hybriden, sondern infolge Fehlschlagens der Kastrierung Selbstungsnachkommen von *R. multiflora* vor. Darüber und über die Cytologie der diploiden

Bastardindividuen werden später noch genauere Angaben zu machen sein.

Bei den 25 diploiden Sämlingen *R. multiflora* × „327" waren die Nebenblätter im Umriß denen von *R.* hybr. „327" ähnlich, schwach gezähnt und fast frei von Drüsenhaaren; demgegenüber besaß nur der Sämling Nr. 83 stärker eingeschnittene und — wie bei *R. multiflora* —

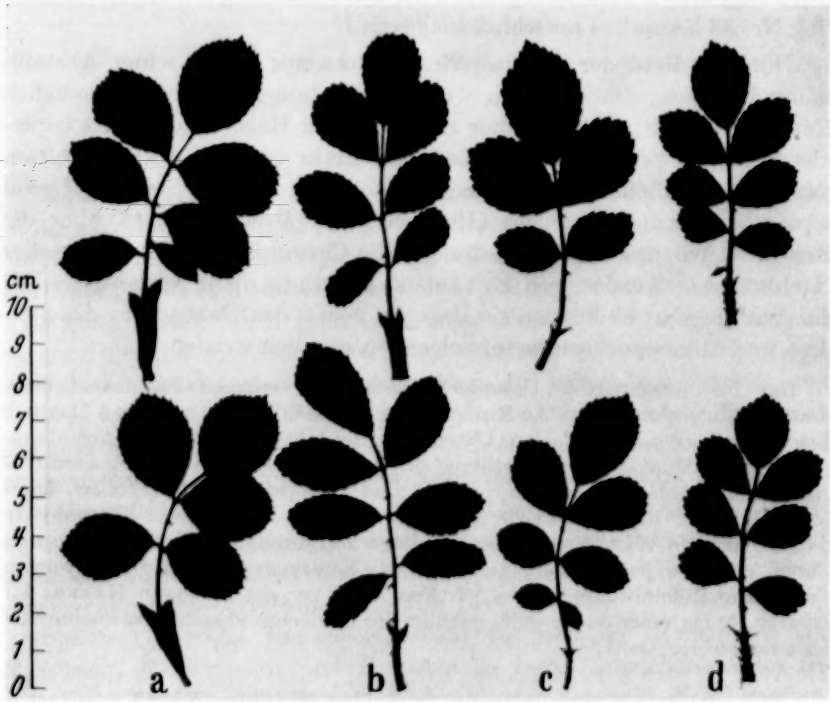

Abb. 1 a—d. Blätter von Freilandpflanzen von a *R.* hybr.„327", b *R. multiflora* × „327", diploider Sämling Nr. 77, c *R. multiflora* × „327", triploider Sämling Nr. 83, d *R. multiflora*. Blätter von der Oberseite (obere Reihe) und Unterseite (untere Reihe).

dicht mit Borsten und Drüsenhaaren besetzte Nebenblätter. Die Rhachis trug bei *R.* hybr. „327" keine Drüsen- und nur wenige Borstenhaare, beim Sämling Nr. 83 war sie ebenso stark, bei den 25 diploiden Hybriden dagegen wesentlich spärlicher mit Haaren und Drüsenhaaren besetzt als bei *R. multiflora*. Die Form der Blätter und Nebenblätter gibt die Abb. 1 vergleichsweise wieder. Die Zahl der Fiederblättchen lag ganz allgemein zwischen 5 und 9.

Für die beiden Eltern, den triploiden Sämling Nr. 83 und den diploiden Sämling Nr. 77 sind einige Blütenmerkmale in Tabelle 1 zusammengestellt worden. Der Vergleich stützt sich jeweils auf 3—5 ausgeblühte Blüten, deren Petalen auf leiseste Berührung abfielen. Die Reihenfolge

Tabelle 1. *Blütenmerkmale von R. hybr. „327", R. multiflora und den Sämlingen Nr. 83 (3n) und 77 (2n).*

Blütenmerkmal	*R.* hybr. „327"	*R. multiflora*	Sämling Nr. 83	Sämling Nr. 77
Zahl der Blüten je Rispe	1—3	10—15	1—5	2—9
Blütenstiel				
a) Borstenhaare . . .	keine	sehr viele	viele	viele
b) Drüsenhaare . . .	keine	keine	keine	keine
Receptaculum				
a) Länge	9 mm	3,5 mm	5 mm	6 mm
b) Borstenhaare . . .	keine	sehr viele	wenig	wenig
c) Drüsenhaare . . .	keine	keine	keine	keine
Sepalen				
a) Länge	22 mm	7 mm	9 mm	10 mm
b) Fiederzahl	6—8	2	2—4	4—6
c) Borstenhaare . . .	keine	sehr viele	viele	viele
d) Drüsenhaare . . .	keine	sehr viele	wenig	keine
Länge der Petalen . . .	23 mm	10 mm	12 mm	13 mm

der Pflanzen in der Kopfleiste der Tabelle 1 entspricht dem Blühbeginn, der bei *R.* hybr. „327" am frühesten, beim Sämling Nr. 77 am spätesten lag. Am 25. 6. 54 blühten bei *R.* hybr. „327" nur noch die dritten Blüten (insgesamt 6) der meist einblütigen Blütenstände; bei *R. multiflora* (etwa $^4/_5$) und bei dem Sämling Nr. 83 (etwa $^3/_5$) waren mehr als die Hälfte der Blüten, beim Sämling Nr. 77 nur die ersten Blüten der Rispen geöffnet bzw. abgeblüht. In allen Merkmalen, mit Ausnahme der Blütenzahl je Rispe zeigte der diploide Sämling Nr. 77 eine stärkere Annäherung an *R.* hybr. „327", der triploide Sämling Nr. 83 aber an *R. multiflora*. Hinsichtlich der Blütenzahl je Rispe nahm der Sämling Nr. 77 unter den Diploiden jedoch eine Ausnahmestellung ein. Bei anderen lag sie zwischen 1 und 6 (2 Pflanzen), 1 und 4 (2 Pflanzen), 2 und 3 (2 Pflanzen), 1 und 2 (1 Pflanze) oder bei 1 (6 Pflanzen). Die restlichen Diploiden blühten im Sommer 1954 nicht. Die Stellung der Sepalen ($^2/_5$) entsprach ebenso wie die Fiederung dem bei Rosen verbreiteten Typ: die beiden äußersten Kelchblätter waren beiderseits gefiedert, das dritte nur einseitig, die beiden innersten nicht. In Tabelle 1 ist die Anzahl der seitlichen Fiedern für das äußerste Sepalum angegeben; das endständige Fiederblättchen wäre also jeweils zu addieren, um zur Gesamtzahl zu kommen.

Im Wuchs erwies sich der Sämling Nr. 83 beiden Eltern stark unterlegen und hielt sich völlig im Rahmen der Leistungen der gleichfalls schwachwüchsigen diploiden Hybriden. Im Herbst 1953 betrug die Trieblänge des Sämlings Nr. 83 60—100 cm gegenüber 120—200 cm bei gleichaltrigen *multiflora*-Sämlingen (z. B. auch den Pflanzen Nr. 72 und 73). Das Laub war bereits bis zum 22. 9. 53 fast restlos abgeworfen; mit diesem

frühen Abschluß der Vegetation hängt es unter anderem wohl auch zusammen, daß die Triebe in den Wintern 1952/53 und 1953/54 nicht erfroren. In den Jahren 1952—1954 blühte der Sämling Nr. 83 regelmäßig an allen Seitentrieben; jede Blüte produzierte eine Hagebutte, die nach Größe und Form denen von *R. multiflora* entsprach.

Die verschiedenen Polyploidiegrade des Sämlings Nr. 83 und seiner Eltern markierten sich gut an den Stomatalängen, nicht aber an den Durchmessern der in allen 3 Fällen haploiden Pollenkörner (Tabelle 2).

Tabelle 2. *Stomatalängen und Pollenkorndurchmesser des Sämlings Nr. 83 und seiner Eltern (in 1/1000 mm nach je 100 Messungen).*

	Polyploidiegrad	Stomatalänge μ	Pollenkorndurchmesser μ
R. multiflora . . .	2n	22,64 ± 0,25	34,86 ± 0,31
Sämling Nr. 83 . .	3n	26,11 ± 0,13	34,27 ± 0,43
R. hybr. „327" . .	5n	32,63 ± 0,22	35,69 ± 0,24

Die Pollenkorndurchmesser wurden jeweils nach Aufquellung in Wasser bestimmt. Sie lagen bei beiden Eltern im Sommer 1952 höher als im Sommer 1954 nach dem außergewöhnlich trockenen Frühjahr. Die in der Tabelle 2 angeführten Werte für *R. multiflora* und *R.* hybr. „327" sind die arithmetischen Mittel aus den Messungen beider Jahre; für den Sämling Nr. 83 wurde die Pollenkorngröße jedoch nur im Sommer 1954 gemessen. Die für *R. multiflora* hier genannte Stomatalänge stimmt mit der von Mameli Calvino (1950) angegebenen gut überein.

Nach den morphologischen Merkmalen und nach dem herabgesetzten Wuchs zu urteilen, kann der Sämling Nr. 83 zweifellos nur als Bastard, nicht aber etwa als triploides *R. multiflora*-Individuum angesehen werden. Die zuletzt angedeutete Möglichkeit wird besonders dadurch ausgeschlossen, daß bei einem seiner Nachkommen (Sämling 83-I-b, vgl. Abschnitt C II) wieder Merkmale des „327"-Elters auftraten. Für die anschließende cytologische Untersuchung ist also mit Gewißheit vorauszusetzen, daß dem Sämling Nr. 83 tatsächlich Bastardcharakter zukommt. Auf Grund der im Vergleich zu den diploiden Bastardindividuen (mit je einem Genom von *R. multiflora* und *R.* hybr.„327") viel stärker ausgeprägten *multiflora*-Ähnlichkeit, wäre ferner zu folgern, daß im Sämling Nr. 83 zwei *multiflora*-Genome mit einem Genom von *R.* hybr.„327" vereinigt vorliegen, d. h. daß seine Entstehung wahrscheinlich aus einer unreduzierten Eizelle von *R. multiflora* erfolgt ist.

C. Zur Cytologie und Fertilität des triploiden Sämlings Nr. 83.

I. Die Mikrosporogenese des Sämlings Nr. 83.

In den Pollenmutterzellen aller 12 überprüften Blüten trat beim Sämling Nr. 83 übereinstimmend eine variable Syndese auf. Sie bewegte sich

zwischen $7_{II} + 7_I$ als Minimum und 7_{III} als Maximum der Paarung, so daß insgesamt 8 verschiedene Konfigurationen zu beobachten waren (vgl. Tabelle 3).

Im Gegensatz zu den später zu besprechenden diploiden Bastardindividuen waren beim Sämling Nr. 83 die in Diplotän und Diakinese befindlichen Pollenmutterzellen gegenüber der Fixierung außerordentlich empfindlich, so daß sie sehr schlecht, frühere und spätere Stadien dagegen gut fixiert waren. Die Paarung mußte daher überwiegend nach Meta- und frühen Anaphasen I beurteilt werden, wobei sich aber auch gewisse Schwierigkeiten ergaben. Einmal ließ die Art der Präparierung (mit Hämatoxylin gefärbte Schnittpräparate) nicht immer klare Schlüsse zu; vor allem wirkte es sich für die Sicherheit der Beurteilung sehr nachteilig aus, daß die Teilungsebene in der Metaphase-Anaphase I meistens schief zur Längsachse der Pollenfächer orientiert war. Es ist somit nach dem Gesagten völlig unmöglich, umfangreicheres Zahlenmaterial über die Frequenz der einzelnen Syndesekonfigurationen zu erbringen.

Nach Auszählung von 60 in Metaphase-Anaphase I befindlichen Pollenmutterzellen traten die mittleren Paarungstypen, nämlich die Syndesen zu $3_{II} + 4_{III} + 3_I$ und $4_{II} + 3_{III} + 4_I$ (Abb. 2b und c), am häufigsten, je in etwa 20% der Pollenmutterzellen, auf. Am seltensten waren die oben als Paarungsminima (Abb. 2d, e, f) und -maxima bezeichneten Konfigurationen. Die restlichen Möglichkeiten schienen sich im Sinne einer binomialen Verteilung mit entsprechenden Häufigkeiten einzuordnen (Tabelle 3).

Tabelle 3. *Häufigkeit der einzelnen Syndesetypen beim Sämling Nr. 83.*

	Syndesetyp								Gesamtzahl der Pollenmutterzellen
	$7_{II} + 7_I$	$6_{II} + 1_{III} + 6_I$	$5_{II} + 2_{III} + 5_I$	$4_{II} + 3_{III} + 4_I$	$3_{II} + 4_{III} + 3_I$	$2_{II} + 5_{III} + 2_I$	$1_{II} + 6_{III} + 1_I$	7_{III}	
Zahl der Pollenmutterzellen . .	4	6	9	12	13	8	5	3	60
	7%	10%	15%	20%	22%	13%	8%	5%	

Unabhängig von ihrer zwischen 7 und 1 variierenden Anzahl erfolgte in der Metaphase I stets eine verspätete Teilung der univalenten Chromosomen, wie es der Caninae-Typ erfordert. Wenn ihre Lage vorher auch gelegentlich mehr oder minder polnahe war (Abb. 2e), so rückten sie immer in die Metaphasenebene ein, sobald diese von den sich trennenden Bi- oder Trivalentpartnern geräumt worden war. Eine gemeinsame Metaphasenplatte aus Bi-, Tri- und Univalenten wurde im Gegensatz zu den reinen Caninae-Arten, wo sich die zentral gelegenen 7 Bivalenten stets peripher von den Univalenten umgeben finden, nur ausnahmsweise gebildet. Im weiteren Verlaufe der Anaphase I ergaben sich häufig Seitenansichten, die eine klare Zählung der Univalentderivate erlaubten (Abb. 2c mit 8 und Abb. 2f mit 14 Univalentabkömmlingen). Wie es

beim Caninae-Typ üblich ist, konnten einzelne Univalentchromatiden zurückbleiben, so daß sie in die Interkinesekerne nicht eingeschlossen wurden. Ihre Eliminierung in der Anaphase I erfolgte um so seltener, je geringer ihre Anzahl war.

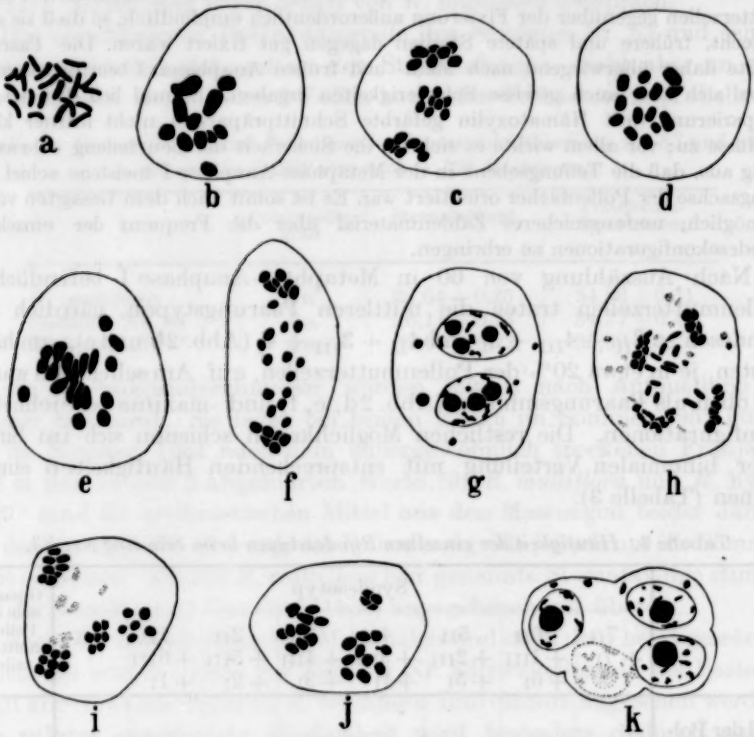

Abb. 2a—k. *R. multiflora* × „327", triploider Sämling Nr. 83: a somatische Metaphase, 2n = 21; b Metaphase I mit 4 Bi-, 3 Tri- und 4 Univalenten; c Anaphase I mit 4 geteilten Univalenten; d Metaphase I mit 7 Bi- und 7 Univalenten; e frühe Anaphase I mit 7 Bi- und 7 Univalenten; f Anaphase I mit 7 geteilten Univalenten; g Interkinese mit 2 Kernen und extranucleärem Chromatin; h Anaphase II mit Nachzüglern in jeder Spindel und extranucleärem Chromatin; i späte Anaphase II mit 4 Chromosomenplatten und in den Spindeln verbliebenen, degenerierenden Nachzüglern; j Metaphase II mit 2 Platten von je 10 Chromosomen und einer Gruppe von 4 ausgestoßenen Chromosomen; k vierkernige Telophase mit extranucleärem Chromatin. — Vergr. 1800mal.

Es verdient besondere Betonung, daß eine Kleinkernbildung in der Anaphase I — Interkinese, wie sie Täckholm (1922) etwa für *R. chinensis* var. *semperflorens* angab, nie eintrat. Die nicht in die beiden Interkinesekerne aufgenommenen Univalentderivate erweckten infolge ihrer variablen Größe und Färbungsintensität, ihrer Abrundung und peripheren Verlagerung vielmehr den Eindruck der alsbaldigen Degeneration (Abb. 2g). Im Gegensatz zu einigen bisher überprüften diploiden Bastardindividuen, bei denen die Interkinesekerne 1 (bis 2) Nucleolen besaßen, lagen beim

Sämling Nr. 83 mindestens 3, gelegentlich aber bis zu 7 Stück je Kern vor. Entsprechend der Zweizahl der Interkinesekerne wurden in Metaphase-Anaphase II befindliche Pollenmutterzellen gesehen, die nur zwei Spindeln enthielten. In ihnen waren auch wieder verspätet sich teilende, zurückbleibende Chromosomen zu bemerken (Abb. 2h). Wahrscheinlich handelte es sich bei diesen um Univalentderivate der Metaphase I, die nunmehr mindestens teilweise eliminiert wurden. In den späten Anaphasen II war die Chromosomenzahl der 4 sich bildenden Kerne ausgezeichnet zu beurteilen; sie betrug meistens 7, selten 8 und nur in dem in Abb. 2i wiedergegebenen, alleinstehenden Ausnahmefall einmal 6.

In Anbetracht der Zweikernigkeit aller Interkinesen und der schnellen Degeneration nicht in die Kerne aufgenommener Univalentspalthälften war es sehr überraschend, daß in der Metaphase II nur in 7 von 36 überprüften Pollenmutterzellen eines Faches zwei Äquatorialplatten vorlagen, in den restlichen 80% der Pollenmutterzellen jedoch eine zwischen 1 und 7 wechselnde Anzahl von Chromosomen außerhalb der beiden regulären Platten sichtbar wurde (Abb. 9j). Diese Chromosomen bildeten in 19 von 29 Fällen (etwa 66%) eine Gruppe, in 7 Fällen (23%) zwei und in 3 Fällen (11%) drei Gruppen. Einzelheiten gibt die Tabelle 4 wieder.

Obgleich in der Metaphase II neben den beiden regulären Platten also bis zu 3 zusätzliche Chromosomengruppen auszumachen waren, wurden in den Anaphasen II nie mehr als insgesamt 3 (statt der erwarteten 5) Spindeln gesehen. Das deutet wohl darauf hin, daß die außerhalb der regulären Platten gelegenen Chromosomen höchstens dann zur Teilung befähigt waren, wenn sie in *einer* Gruppe vorlagen und daß sie also in etwa 34% der Fälle degenerieren mußten, ohne vorher noch einer Teilung zu unterliegen. Im Laufe ihrer Auflösung im Plasma scheint

Tabelle 4. *Außerhalb der Platten liegende Chromosomen in der Metaphase II des Sämlings Nr. 83.*

	Anzahl der Chromosomen außerhalb der Platten								Summe
	0	1	2	3	4	5	6	7	
Anzahl der Pollenmutterzellen . .	7 20%	2 5,5%	4 11%	7 20%	8 22%	3 8%	3 8%	2 5,5%	36
Alle Chromosomen in einer Gruppe liegend	—	2×	3×	4×	6×	1×	2×	1×	19
Die Chromosomen in 2 Gruppen liegend	—	—	1×	1× (1+2)	2× (2+2)	1× (2+3)	1× (2+4)	1× (3+4)	7
Die Chromosomen in 3 Gruppen liegend	—	—	—	2× (1+1+1)	—	1× (1+1+3)	—	—	3

aber eine Fragmentierung möglich zu sein, denn gelegentlich fanden sich in den zweispindeligen Anaphasen II bis zu 15 stäbchenförmige oder kugelige färbbare Körper, die als solche degenerierenden extranucleären Chromosomen oder Chromosomenstücke aufgefaßt wurden (Abb. 2h). Möglicherweise erfuhren auch die in einer Gruppe außerhalb der regulären Platten zusammenliegenden Chromosomen nicht immer eine ordnungsgemäße Teilung, und zwar besonders dann nicht, wenn ihre Zahl nur gering war (unter 3—4 ?). Jedenfalls gingen in der Anaphase II Teilungs- und Degenerationsvorgänge Hand in Hand, was besonders durch die Tatsache unterstrichen wurde, daß es trotz intensivsten Suchens nicht möglich war, späte Anaphasen II und Telophasen mit mehr als 4 Kernen zu entdecken!

Die gesamte geschilderte Erscheinung — das nach den zweikernigen Interkinesen unerwartete Auftreten von Metaphasen II mit außerhalb der regulären Platten gelegenen Chromosomen, die Möglichkeit ihrer Teilung in einer dritten Spindel in der frühen Anaphase II und schließlich die sehr schnelle Degeneration aller Chromatinelemente außerhalb der „normalen" 4 Telophasekerne — läßt sich wohl kaum anders denn als *besonderer Mechanismus einer Chromosomenelimination* auffassen. Die in Tabelle 4 zusammengestellten Werte, daß nämlich 0—7 Chromosomen außerhalb der beiden Platten liegen konnten, wobei die Fälle von 3 und 4 Chromosomen (neben 0) die häufigsten waren, werden verständlich unter der Annahme, *daß es sich bei den auf diese Weise eliminierten Chromosomen um solche handelt, die infolge der zufallsgemäßen Verteilung der Trivalentpartner in den Interkinesekernen als „überzählige" Homologe vorhanden waren.* Denn wie oben gesagt wurde, kamen in der Metaphase I 0—7, meistens 3 oder 4 Trivalente vor. Höher allerdings als nach dem Auftreten von 0 Trivalenten (Syndesetyp $7_{II} + 7_I$) in der Metaphase I (Tabelle 3) zu erwarten war, ist der Wert der Tabelle 4 für Metaphasen II mit nur 2 Platten. Er darf wohl so ausgelegt werden, daß die vermutete Ausstoßung des überzähligen Trivalentpartners aus den Kernen der Prometaphase II nicht immer funktioniert. Ebenso vermögen sich offenbar die ausgestoßenen Chromosomen nicht immer zu einer 3. Platte oder Gruppe zusammenzufinden (Tabelle 4).

Nach der hier gegebenen Erklärung sind die in den Metaphasen II aufgefundenen Chromosomenzahlen im allgemeinen gut zu deuten, wobei in manchen Fällen allerdings eine Univalenteliminierung in der Anaphase I in Rechnung gestellt werden muß. Der Abb. 2j, die eine der häufigsten Konstellationen der Metaphase II wiedergibt (vgl. Tabelle 4), könnte z. B. die Syndese zu $3_{II} + 4_{III} + 3_I$ zugrunde gelegen haben. In jeder der zehnchromosomigen Platten wären dann 3 Chromosomen als ehemalige Bivalent-, 4 als ehemalige Trivalentpartner und 3 als Univalentabkömmlinge aufzufassen. Die in dieser Rechnung noch fehlenden 4 Chromosomen (Trivalentpartner) fänden sich in der zusätzlichen Gruppe.

Die Chromosomenzahl in den beiden regulären Platten der Metaphase II betrug ausschließlich 7 (41%), 8 (35%), 9 (13%) oder 10 (11%). In den späten Anaphasen II ließ sich infolge der schon erwähnten Degenerationsvorgänge ein Unterschied zwischen Pollenmutterzellen mit 2 und 3 Spindeln nicht mehr machen; die obengenannten Chromosomenzahlen: meistens 7, gelegentlich 8, einmal 6 (Abb. 2i) gelten somit für alle späten Anaphasen II bzw. die 4 Tetradenkerne. Auch ausnahmsweise wurden Telophasen mit mehr als 4 Kernen nicht aufgefunden. Die Cytokinese verlief immer vollkommen regelmäßig (Abb. 2k). Die Pollensterilität betrug 71%. Anfangs entwickelten sich die jungen, stets einkernigen Pollenkörner gleichmäßig und waren gleich groß; wann die Degeneration eines Teiles von ihnen einsetzte, war an meinen Präparaten nicht zu ermitteln. Die gesamten Beobachtungen deuten darauf hin, *daß die vitalen Pollenkörner des Sämlings Nr. 83 ausschließlich 7 Chromosomen enthalten.*

Es ist möglich, daß die Pollensterilität nicht nur auf meiotische Unregelmäßigkeiten zurückgeht. Bald nach der Cytokinese und Einsetzen der Exinebildung und noch vor der Teilung ihres Kernes lagen die jungen Mikrosporen nämlich in den Pollenfächern außerordentlich dicht zusammengepreßt. Zum Teil erschienen sie ausgesprochen arm an Plasma. Es entstand daraus der Eindruck, daß das Wachstum der Pollenfachwandung und das der Pollenkörner nicht hinreichend aufeinander abgestimmt wären und daß Ernährungsschwierigkeiten vorliegen könnten. „Physiological conditions affecting growth of micro- and macrospores", nahm früher ebenfalls schon KIHARA (1944, S. 58) an, als er beim diploiden Bastard *R. multiflora* × *rugosa* trotz überwiegender Syndese zu 5—7 Bivalenten totale Pollensterilität auffand.

II. Untersuchungen zur Fertilität des Sämlings Nr. 83.

Im November 1953 wurden 17 aus Selbstbestäubung hervorgegangene Hagebutten geerntet und auf den Ansatz von Nüßchen hin untersucht. Es fanden sich insgesamt 222 Samenanlagen (je Butte 10—18), davon waren 189 (je Butte 8—17) frühzeitig abgestorben (ob vor oder nach der Befruchtung?). Wenn man die Nüßchengröße von *R. multiflora* als Vergleichsmaßstab heranzieht, so lagen insgesamt 4 (je Butte 0—1) mittelgroße und 29 Nüßchen (je Butte 1—3) von normaler Größe vor. Die durchschnittliche Nüßchenfrequenz betrug bei Berücksichtigung nur der 29 großen Nüßchen somit 1,7 je Butte.

Diese 29 Nüßchen normalen Aussehens wurden gleich nach der Entnahme aus der sehr trockenen und spröden Scheinfrucht der Schwimmprobe auf Wasser unterworfen. Dabei sanken 8 Nüßchen sofort unter (Probe 83-I), 13 waren nach 6 Std ebenfalls gesunken (Probe 83-II), während 8 noch auf dem Wasser schwammen (Probe 83-III). Die Nüßchen wurden am nächsten Tage (24. 11. 53) in den 3 Proben

getrennt in Schalen ausgesät und im mäßig geheizten Gewächshaus des Instituts für Pharmakognosie der Universität Kiel, abgesehen von sorgfältigem Gießen, sich selbst überlassen.

Die Keimung begann am 3. 2. 54 bei der Probe 83-II und am 10. 3. 54 bei der Probe 83-I. Bis zum 2. 4. 54 waren aus der erstgenannten Probe 4 Sämlinge (46% der Nüßchen) und aus der letzteren Probe 2 Sämlinge (25% der Nüßchen) aufgelaufen. Die Vitalität der Nüßchen läge nach den bisherigen Versuchen also, bezogen auf die Nüßchen normalen Aussehens, insgesamt bei 20,7%.

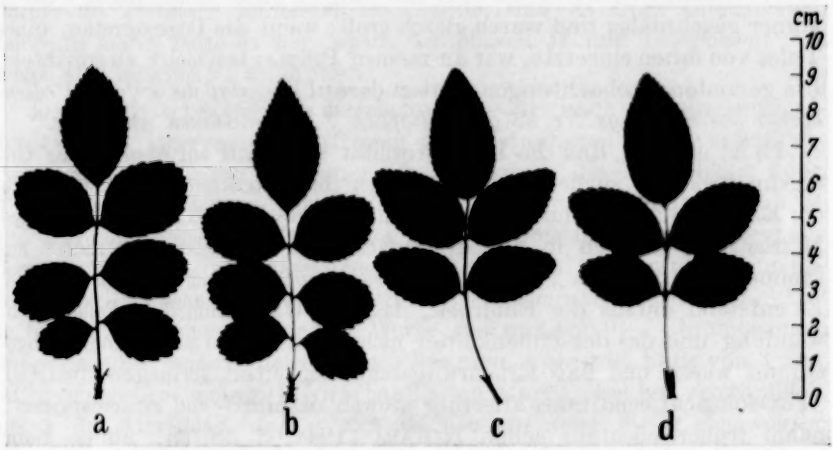

Abb. 3 a–d. Blätter von Gewächshauspflanzen: a Ober-, b Unterseite vom Sämling 83-II-a, c Ober-, d Unterseite vom Sämling 83-I-b.

Bis zum Abschluß dieses Manuskripts erfolgten weitere Keimungen nicht, insbesondere blieben sie bei der Probe 83-III vollständig aus. Die bisher aufgelaufenen Pflänzchen wurden am 26. 4. 54 aus den Saatschalen heraus in einzelne Töpfe pikiert und am 25. 5. 54 in größere Töpfe umgepflanzt. Bis zum 9. 6. 54 wurden mehrfach Wurzelspitzen für die Fixierung entnommen. Bis zu diesem Tag verblieben die Pflänzchen im Gewächshaus, anschließend wurden sie ins Freiland verpflanzt.

Die 6 Sämlinge ließen sich nach der Blattmorphologie in 2 Gruppen einteilen (Abb. 3), von denen die eine nur durch den zuletzt aufgelaufenen schwachwüchsigen Sämling 83-I-b repräsentiert wurde. Seine Blätter waren höchstens 5zählig gefiedert, die Nebenblätter glichen denen der in Abschnitt II erwähnten 25 diploiden Bastardindividuen *R. multiflora* × „327" weitgehend, zeigten also Merkmale des ursprünglichen Pollenspenders *R.* hybr. „327" (vgl. Abb. 1).

Die 5 Sämlinge der 2. Gruppe (83-I-a und 83-II-a, b, c, d) waren dagegen in den Blattmerkmalen und im gesamten Habitus von *R. multiflora*-Sämlingen nicht zu unterscheiden. Insbesondere zeigten ihre Nebenblätter eine starke „Zerfransung", die durch die Gewächshauskultur

noch verstärkt in Erscheinung trat. Irgendwelche Anklänge an *R.* hybr. „327", wie sie beim Sämling 83-I-b zu verzeichnen waren, fehlten bei ihnen völlig. Ihre Blätter waren 5—7zählig gefiedert.

Cytologisch bestand insofern Übereinstimmung zwischen den 6 Sämlingen, als sie alle nach Zählungen an Wurzelspitzenmitosen *2n = 14 Chromosomen* besaßen (Abb. 4). Damit wäre erstmals gezeigt, daß in der Deszendenz fertiler triploider Rosen keine triploiden Sämlinge aufzutreten brauchen, wie ERLANSON (1929) es analog zum Caninae-Schema unter anderen Möglichkeiten in Betracht zog.

Ein Versuch, die Makrosporogenese des Sämlings Nr. 83 zu untersuchen, schlug leider fehl; doch geht aus der Diploidie der 6 Sämlinge mit Sicherheit hervor, daß die entwicklungsfähigen Eizellen ebenso wie die fertilen Pollenkörner des Sämlings Nr. 83 offensichtlich 7 und nicht, wie es dem Caninae-Typ entsprechen würde, 14 Chromosomen erhalten. Bei der Makrosporogenese scheinen also ähnliche Chromosomeneliminationen zu erfolgen, wie sie oben für die Mikrosporogenese beschrieben worden sind. Die Diploidie aller Sämlinge 83-I und 83-II deutet ferner darauf hin, daß Gonen bzw. Embryonen mit aneuploiden Chromosomenzahlen wohl in der Regel nicht lebensfähig sind.

Abb. 4. Metaphase mit 2n = 14 Chromosomen aus der Wurzelspitze des Sämlings 83-I-a. — Vergr. 1800mal.

D. Besprechung der Ergebnisse und Vergleich mit anderen triploiden Rosen.

I. Die Syndese.

Im Gegensatz zur Meinung ERLANSONS (1933, S. 559), daß eine Trivalentbildung bei triploiden Rosen „is characteristic of non-hybrid triploids", ergaben die vorstehenden Untersuchungen am Sämling Nr. 83, *daß auch bei interspezifischen triploiden Rosen Trivalente auftreten können.* Speziell wurde damit das *Bindungsvermögen zwischen Chromosomen von Caninae- und Nichtcaninae-Rosen* bestätigt, das FAGERLIND (1945) bereits an den diploiden Bastarden *R. rugosa* × *rubrifolia* auffand. Während bei diesen aber konstant 7 Bivalente gebildet wurden, zeigte der Sämling Nr. 83 ein Variieren der Chromosomenkonjugation um einen mittleren Syndesegrad. Die Möglichkeit des Vorkommens von 7 Trivalenten deutet jedoch darauf hin, daß für das Variieren der Chromosomenpaarung nicht mangelnde Homologie der Chromosomen verantwortlich sein dürfte. In Übereinstimmung mit FAGERLIND wird vielmehr eine *starke Autogenomatie aller Rosengenome* angenommen, woraus sich aber die Notwendigkeit ergibt, für die Inkonstanz der Chromosomenbindungen bei den triploiden Rosen nach einer anderen Erklärung zu suchen.

Diese scheint auf der Basis *meiosisregulierender Gene* möglich zu sein. Fagerlind (besonders 1945) und Blackhurst (1948) traten schon für eine Gensteuerung der Caninae-Syndese und -Meiosis ein. Der erstgenannte schwedische Forscher führte die meiotischen und embryologischen Eigentümlichkeiten der Caninae-Rosen auf einen Genkomplex zurück, dem unter anderen auch *Asyndese auslösende Gene* angehören sollen. Für die Nichtcaninae-Rosen glaubten Wulff und Heldt (1953) gleichfalls einen meiosisregulierenden Genkomplex mit spezieller Ausrichtung auf die *Kontrolle der Bivalentbildung* annehmen zu müssen. Wulff (1954b, c) sprach sich sodann dafür aus, daß der meiosisregulierende Genkomplex der Caninae mutativ aus dem der Rosen mit normaler Meiosis entstanden sei. Ferner wies Fagerlind (1945) bereits an Hand der abweichenden Syndeseverhältnisse bei den Caninae-Bastarden darauf hin, daß die „geminibildenden" Genome der Caninae von Art zu Art verschieden sind und nicht füreinander zu vikariieren vermögen. Aus den in der Regel vom Caninae-Typ mehr oder minder abweichenden Syndesekonfigurationen der Hybriden Caninae-Rose × Nichtcaninae-Rose [(vgl. die Literaturzusammenstellung bei Wulff (1954a)] ließ sich schließlich noch ableiten, daß die Genome der Rosen mit normaler Meiosis den Caninae-Genkomplex in verschieden starkem Maße „stören". Die Folgerung erscheint also berechtigt, daß ebenfalls die Nichtcaninae-Rosen hinsichtlich der Konstitution ihrer meiosisregulierenden Genkomplexe differieren. Die bei den Caninae- und Nichtcaninae-Rosen bestehenden Unterschiede zwischen den meiosisregulierenden Genkomplexen wären wohl — um einen von Blackhurst (1948) schon angedeuteten Gedanken aufzugreifen — am ehesten auf der Basis einer *multiplen Allelie* zu verstehen. Diese Erklärung würde zudem eine starke Autogenomatie aller Rosengenome nicht unmöglich machen, da die multiple Allelie ja keine syndesemindernde Veränderung im submikroskopischen Feinbau der Chromosomen bedingt.

Nach dem Gesagten ist es einleuchtend, daß jede Hybridisierung Gelegenheit bietet zur Vereinigung der Teile von verschieden konstituierten Genkomplexen, die unter Umständen einen neuen Gesamtkomplex völlig abweichender Konstitution und Wirkung zu ergeben vermögen. Aus dem mehr oder minder „guten" Zusammenspiel der Gene solcher Hybridkomplexe würden sich sodann zweifellos die Fälle normaler Syndese ebenso wohl erklären lassen, wie alle Grade von gesteigerter oder verminderter Bindung der Chromosomen. Auch das Auftreten einer konstanten Syndeseform oder das Variieren zwischen mehreren Syndesekonfigurationen bei Bastarden wären auf der gleichen Grundlage der Neukonstellationen in den meiosisregulierenden Genkomplexen einer Deutung leicht zugänglich: den ersteren Fall könnte man auf eine gut ausgeglichene, in ihrer Wirkung modifikativ schwer beeinflußbare Kon-

stitution, den letzteren auf eine schlecht ausbalanzierte, unter modifizierenden Einflüssen in ihrer Wirkung labile Konstitution zurückführen.

Auf die durch die Annahme von „Auto-" bzw. „Allotriploidie" nicht verständlichen Chromosomenpaarungen bei den triploiden Rosen angewandt, würden die bisherigen Ausführungen das folgende besagen: a) der von TÄCKHOLM (1922) und ERLANSON (1929) beobachteten Paarung zu ziemlich konstant $7_{II} + 7_I$ (selten $6_{II} + 9_I$) dürfte ein aus drei gut zusammenarbeitenden Teilen neuaufgebauter meiosisregulierender Genkomplex zugrunde liegen, der auf eine Kontrolle der Bivalentbildung gerichtet und in seiner Wirkung nur schwer modifikativ beeinflußbar ist, b) die zwischen $7_{II} + 7_I$ und 21_I variierende Syndese der *R. blanda* × *carolina* (ERLANSON 1929) wäre wahrscheinlich auf eine schlecht ausbalanzierte Konstitution im meiosisregulierenden Genkomplex zurückzuführen, die zwar unter bestimmten, relativ selten verwirklichten Bedingungen die Paarung zu $7_{II} + 7_I$ ergeben kann, sonst aber einen bis zu totaler Asyndese führenden Ausfall an Chromosomenbindungen zuläßt, c) beim Sämling Nr. 83 und den von ERLANSON (1933) untersuchten „Autotriploiden" lägen schließlich im meiosisregulierenden Genkomplex ebenfalls schlecht ausgeglichene Konstitutionen vor, die unter günstigsten Bedingungen zwar auch Syndese zu $7_{II} + 7_I$ bewirken, im Gegensatz zum vorigen Fall aber modifikativ eine Syndesesteigerung bis zu 7_{III}[1] erlauben. Die unter b) und c) genannten Beispiele haben also eine konstitutionell bedingte, starke Störungsanfälligkeit in der Kontrolle der Bivalentbildung gemeinsam, doch erfolgt die Reaktion nach entgegengesetzten Richtungen (Asyndese oder Trivalentbildung).

Die in der Trivalentbildung des Sämlings Nr. 83 sich ausprägenden starken Syndesetendenzen sind übrigens geeignet, den schon in Abschnitt II auf Grund der Morphologie angenommenen Aufbau seines Genoms aus zwei *multiflora*- und einem „327"-Genom zu stützen. Da das letztgenannte Genom als Caninae-Genom nämlich nach FAGERLIND Asyndese auslösende Gene enthalten dürfte und da die diploiden Bastarde *R. multiflora* × „327", wie später noch eingehend zu schildern sein wird, tatsächlich konstante Typen partieller Asyndese zeigen, ist die oben gegebene genomatische Konstitution für den Sämling Nr. 83 auch nach seinem cytologischen Verhalten wahrscheinlicher als das reziproke Verhältnis (1 Genom von *R. multiflora* und 2 von *R.* hybr. „327").

[1] In einer jüngst erschienenen Arbeit machte Miss A. P. WYLIE [Amer. Rose Ann. **39**, 36—66 (1954)] kurze Angaben über die Meiosis der 3n-Polyanthahybride „Else Poulsen". Die Syndese variierte bei dieser Rose zwischen $^*7_{III}$ und $1_{III} + 6_{II} + 6_I$. Ähnlich wie beim Sämling Nr. 83 wurden in den meisten Pollenmutterzellen 3 oder 4 Trivalente angetroffen. Funktionsfähig sind wahrscheinlich nur 14-chromosomige Geschlechtszellen. (Zusatz bei der Korrektur.)

II. Die Fertilitätserscheinungen.

Neben den Syndesemerkmalen wurde für den Sämling Nr. 83 vorstehend die hohe Fertilität als Besonderheit herausgestellt. Diese teilt er, wenn man von dem sporadischen Buttenansatz bei *R. palustris* × *carolina* absieht, unter den bisher untersuchten triploiden Rosen nur mit *R. blanda* × *carolina*. Für den letztgenannten Bastard sprach Erlanson (1929) zwar wegen der häufig aufgefundenen zweimaligen Univalentspaltung bei der Mikrosporogenese von einer starken Annäherung im meiotischen Verhalten an die Caninae-Rosen; Untersuchungen über die Keimfähigkeit der Nüßchen, über Sämlinge und deren Chromosomenzahlen fehlen aber bedauerlicherweise völlig. Erlanson (1929, S. 498) deutete daher für die Fertilität nur 3 Möglichkeiten an: „The plant may be a starting point for a race of triploid roses analogous cytologically to the pentaploid Caninae, or is able to give either tetraploid or diploid offspring by self-fertilization". Die am Sämling Nr. 83 und seinen Nachkommen gewonnenen Ergebnisse weisen nunmehr darauf hin, *daß bei fertilen triploiden Rosen eine diploide (oder allenfalls tetraploide) Deszendenz größere Wahrscheinlichkeit für sich hat als eine triploide.* Diese Schlußfolgerung muß um so zwingender erscheinen, als der Sämling Nr. 83 als die einzige cytologisch bekannte, fertile Triploide ein Caninae-Genom besitzt. Denn wegen der oben schon betonten Unterschiede in den meiosisregulierenden Genkomplexen der Caninae- und der Nichtcaninae-Rosen ist es in höchstem Maße unwahrscheinlich, daß aus Nichtcaninae-Rosen hervorgegangene Triploide zur Ausprägung des Caninae-Typs, speziell der Heterogamie, befähigt sein könnten. Dazu ist offenbar der Besitz von Caninae-Genomen erforderlich, sei es dieser allein oder sei es in einem bestimmten Mindestverhältnis zu Nichtcaninae-Genomen. Obwohl das *multiflora*-Genom den Caninae-Komplex besonders wenig „stört" (Wulff 1952), vermochte sich bei der Meiosis des Sämlings Nr. 83 denoch das eine Caninae-Genom nicht gegen die zwei Nichtcaninae-Genome durchzusetzten: es konnte, wie die Diploidie der Pflanzen 83-I und 83-II zeigte, die für die Caninae-Rosen typische Heterogamie nicht erreicht werden. Vielleicht vermöchte beim Vorliegen anderer triploider Genomkonstitutionen (2 Caninae- und 1 Nichtcaninae-Genom oder 3 Caninae-Genome) der Caninae-Typ (Pollenkörner mit 7, Eizellen mit 14 Chromosomen) realisiert zu werden. Allzuweit gespannt dürfen unsere Erwartungen in dieser Hinsicht allerdings auch nicht werden, denn aus dem ausschließlichen natürlichen Vorkommen von tetra-, penta- und hexaploiden Caninae ist möglicherweise die Schlußfolgerung erlaubt, daß die Tetraploidie die niedrigste Polyploidiestufe ist, mit welcher der Caninae-Typ überhaupt verknüpft sein kann. Sofern künftige Untersuchungen triploider Rosen nichts Gegenteiliges ergeben, scheinen bei der Gattung *Rosa* also andere Verhältnisse zu herrschen als bei der triploiden Epacridacee *Leucopogon*

juniperinus (2n = 12), bei der SMITH-WHITE (1948) einen gleichsam „reziproken" Caninae-Typ auffand (Pollenkörner mit 8, Eizellen mit 4 Chromosomen).

Der gesamte Ablauf der Meiosis des Sämlings Nr. 83 zielte sehr eindringlich auf eine Bildung haploider männlicher Gameten hin. Nicht nur beim Vorliegen des Syndeseminimums von $7_{II} + 7_{I}$ wurde mit verzögerter Teilung der Univalenten in beiden Metaphasen die Eliminierung ihrer Derivate in beiden Anaphasen angestrebt, sondern das geschah ebenfalls in den Pollenmutterzellen mit weniger als 7 Univalenten (1—6). Bei den letzteren war aber außerdem eine Tendenz zur Erzeugung haploider Kerne durch die zusätzliche Ausstoßung ganzer Chromosomen in der Prometaphase II und ihre anschließende Degeneration zu beobachten. *Es wirkten hier also 2 Eliminierungsprozesse nebeneinander auf eine Herabregulierung der Chromosomenzahl zum Haploidgenom hin.*

Daß es sich bei den ausgestoßenen Chromosomen um die infolge der zufallsgemäßen Trennung und Verteilung der Trivalenten in die Interkinesekerne gelangten „überzähligen" homologen Chromosomen zu handeln vermöchte, wird außer durch die im vorstehenden Abschnitt diskutierten Häufigkeitswerte (Tabelle 4) auch durch die relativ gute Pollenfertilität und hohe Buttenfrequenz des Sämlings Nr. 83 wahrscheinlich. Sehr bemerkenswert ist die Tendenz der ausgestoßenen Chromosomen, sich in einer Gruppe zusammenzulagern, und ihre Fähigkeit, sich alsdann in der Anaphase II in einer 3. Spindel noch teilen zu können, ehe sie im Plasma gelöst werden. Da 5 der 6 Sämlinge 83-I und 83-II absolute *multiflora*-Ähnlichkeit hatten, ist es äußerst wahrscheinlich, daß es sich bei den Chromosomen, die durch Univalenteliminierung in beiden Anaphasen oder Ausstoßung in der Prometaphase II verlorengehen, vorwiegend um die der *R.* hybr. „327" handelt.

Chromosomenausstoßungen aus den Zellkernen der Rosen sind von HURST im Rahmen seiner Septett-Theorie in großem Maße angenommen und zum Teil durch Abbildungen belegt worden (z B. HURST 1925, Fig. 171, speziell für Triploide). Auch ERLANSON (1929) hielt sie trotz ablehnender Haltung gegenüber der Septett-Theorie und Hinweis darauf, daß es sich in vielen Fällen um Fixierungsartefakte handeln dürfte, nicht für unmöglich. Hingewiesen sei auch auf einen früher von mir beobachteten Ausnahmefall bei dem Caninae-Abkömmling *R.* hybr. „315", wo in der Metaphase-Anaphase I eine Absonderung aller Univalenten von den Bivalenten erfolgt war (WULFF 1954a, Fig. 10). An anderen Arten oder Bastarden aufgefundene Beispiele für „Chromosomendiminutionen" durch Ausstoßung finden sich bei TISCHLER (1951 und besonders 1954, S. 333ff.) zitiert. Ferner ist im Rahmen einer „Cytomixis" die Absonderung einzelner Chromosomen aus den Kernen ebensowohl möglich, wie durch das Auftreten von Spindelspaltungen. Eine gewisse Gesetzmäßigkeit in der Gruppenbildung und Eliminierung von Chromosomen, ähnlich der am Sämling Nr. 83 beobachteten, dürfte allerdings nur bei dem von PARTHASARATHY (1951) untersuchten *Saccharum*-Stamm Co. 421 vorliegen. Hier bildeten sich aus den 2n = 118 Chromosomen in der Metaphase I stets 2 Spindeln, von denen die eine 43, die andere, die einer Degeneration anheimfiel, 16 Gemini aufwies.

Im Zusammenhang mit der hohen Buttenfrequenz verdient die relativ gute Pollenfertilität des Sämlings Nr. 83 Beachtung. Sie ist nach Auszählung von 1000 Pollenkörnern in Tabelle 5 im Vergleich mit den sonst für Pollen von triploiden Rosen bekannten Sterilitätswerten dargestellt. Bekannt ist, daß die Pollenfertilität von Jahr zu Jahr gewissen Schwankungen ausgesetzt ist (Erlanson 1931, Flory 1950, Wulff 1951). Auszählungen an mehreren Rosen ergaben im Sommer 1954 — ähnlich wie für die Pollenkorngröße — niedrigere Werte gegenüber früheren Jahren. Möglicherweise wäre hierin eine Auswirkung der zur Zeit der Blütenentwicklung bestehenden abnorm trockenen Witterung in Schleswig-Holstein zu sehen. Für das bei der Hybridisierung benutzte Individuum von *R. multiflora* betrug die Pollenfertilität z. B. nur 56,2%. Dieser Wert erlaubt die Feststellung, daß der triploide Sämling Nr. 83 bemerkenswerterweise im Sommer 1954 rund halb (51,6%) soviel morphologisch guten Pollen produzierte wie seine diploide Mutter!

Tabelle 5. *Pollensterilität bei triploiden Rosen.*

Pflanze	Sterilität %	Autor
R. centifolia var. *major*	95	Hurst (1921), zit. nach Täckholm (1922) und Erlanson (1929)
R. palustris × *carolina*	100	Erlanson (1929, 1931)
R. palustris × *virginiana*	93—97	
R. blanda × *carolina*	86—92	
R. multiflora × „327", Sämling Nr. 83	71	Wulff

Mit der aus Tabelle 5 ersichtlichen Überlegenheit des Sämlings Nr. 83 hinsichtlich der Pollenfertilität steht es völlig im Einklang, daß die Mikrosporogenese in einigen Teilprozessen, die noch kurz erwähnt seien, bei ihm wesentlich normaler verlief, als bei den sonst daraufhin studierten triploiden Rosen. Bei ihm fand z. B. weder eine prämeiotische Degeneration von Pollenmutterzellen statt [Erlanson (1929) für *R. palustris* × *carolina*], noch eine Dyadenbildung [Erlanson für den eben genannten Bastard und Täckholm (1922) für *R. francofortana*]. Für *R. francofortana* machte Täckholm (1922) ferner auf die Verschiedenheit der Teilungsstadien in den Pollenmutterzellen eines Faches aufmerksam, beim Sämling Nr. 83 trat diese dagegen nicht auf. Während außerdem für alle daraufhin bisher untersuchten triploiden Rosen Unregelmäßigkeiten bei der Tetradenbildung angegeben worden sind, führte diese beim Sämling Nr. 83 ausschließlich zu 4, mindestens anfangs, gleichgroßen Mikrosporen, in die keine Kleinkerne eingeschlossen waren. Um nur die beiden Bastarde hier zu erwähnen, die nach der Meinung Erlansons (1929) dem Caninae-Typ am nächsten kamen, so fand Täckholm (1922) bei *R. centifolia* var. *major* zwar meistens keine überzähligen Zellen in den Tetraden, wohl aber häufig Zwergkerne in den größeren, vor ihrer

Isolierung noch degenerierenden Tetradenzellen, und bei *R. blanda* × *carolina* sah ERLANSON (1929) allerdings viele Tetraden, doch auch Verbände bis zu 7 Zellen.

Eine Zufallsbeobachtung zur Abhängigkeit der Pollenkorngröße von der Nährstoffzufuhr sei abschließend kurz mitgeteilt. Vom Sämling Nr. 83 wurden 19 Tage bevor sich im Freiland die ersten Blüten am Strauch öffneten, 3 Seitentriebe mit je 5 Knospen und 1—2 Blättern in Brunnenwasser ins Zimmer gestellt. Die meisten Knospen fielen im Verlaufe einiger Tage ab; es öffneten sich nach 14 Tagen (also eher als im Freiland) nur 2 Blüten, von denen eine auf Pollensterilität und Pollenkorngröße überprüft wurde. Die erstere lag mit 77,6% ungefähr in der Größenordnung des für am Strauch erblühte Knospen mitgeteilten Wertes (vgl. Tabelle 5), die Pollenkorngröße war aber um 21% auf 27,01 $\mu \pm 0{,}23$ abgesunken (vgl. Tabelle 2). Die von anderen Autoren, so etwa von TISCHLER (1926, S. 338) und von meiner Schülerin LUCKE-KRAMER (1952) gemachte Erfahrung, daß unzureichende Ernährung auf eine Verkleinerung der Pollenkörner hinzuwirken vermag, kann also um ein sehr eindrucksvolles Beispiel vermehrt werden.

Zusammenfassung.

Neben diploiden Individuen entstand in der Kreuzung *R. multiflora* × (*R. canina* × *R. coriifolia* var. *Froebelii*) ein hochfertiler triploider Sämling (Nr. 83) von ausgeprägter *multiflora*-Ähnlichkeit. Gegenüber gleichaltrigen *multiflora*-Sämlingen war sein Wachstum erheblich herabgesetzt.

Die Syndese in den Pollenmutterzellen variierte zwischen $7_{II} + 7_I$ und 7_{III}, am häufigsten waren die Konfigurationen $4_{II} + 3_{III} + 4_I$ und $3_{II} + 4_{III} + 3_I$ zu finden.

Die Univalenten erfuhren in beiden Metaphasen eine verzögerte Teilung, ihre Derivate konnten in beiden Anaphasen eliminiert werden. In den Prometaphasen II war ferner eine Ausstoßung ganzer Chromosomen zu beobachten. Bei diesen handelte es sich wahrscheinlich um die infolge der Trivalentbildung in die Interkinesekerne gelangten „überzähligen" Homologen. Die Eliminierung der Univalentderivate und die Chromosomenausstoßung führten zu einer überwiegenden Bildung von 7-chromosomigen Pollenkörnern.

Sechs Sämlinge des Bastards Nr. 83 erwiesen sich als diploid. Danach wären für die Makrosporogenese ähnliche Vorgänge anzunehmen, wie sie bei der Mikrosporogenese vorliegen. Keineswegs repräsentiert dieser Bastard Nichtcaninae-Rose × Caninae-Hybrid den Caninae-Typ.

Aus den morphologischen Charakteren des triploiden Bastards Nr. 83 und seiner diploiden Sämlinge sowie seinem meiotischen Verhalten wird gefolgert, daß in ihm 2 *multiflora*-Genome mit einem des Hybriden *R. canina* × *R. coriifolia* var. *Froebelii* vereinigt sind. Da 5 seiner Sämlinge von *multiflora*-Sämlingen nicht zu unterscheiden waren, dürften

es vorzugsweise die Chromosomen von *R. canina* × *R. coriifolia* var. *Froebelii* sein, die als Univalentderivate in beiden Anaphasen eliminiert oder als ganze in der Prometaphase II ausgestoßen werden.

Unter der Voraussetzung, daß die Reduktionsteilung sowohl bei den Caninae- als auch bei den Nichtcaninae-Rosen durch meiosisregulierende Genkomplexe gesteuert wird, wird angenommen, daß der variablen Syndese des Sämlings Nr. 83 ein neu durch die Kreuzung zustande gekommener, meiosisregulierender Genkomplex zugrunde liegt, der in seiner Konstitution schlecht ausbalanziert und in seiner Wirkung unter modifizierenden Einflüssen sehr labil ist.

Literatur.

Blackhurst, H. T.: Cytogenetic studies on *Rosa rubiginosa* L. and its hybrids. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. **52**, 510—516 (1948). — Erlanson, E. W.: Cytological conditions and evidences for hybridity in North American wild roses. Bot. Gaz. **87**, 443—506 (1929). — Sterility in wild roses and in some species hybrids. Genetics **16**, 75—96 (1931). — Chromosome pairing, structural hybridity, and fragments in *Rosa*. Bot. Gaz. **94**, 551—566 (1933). — Fagerlind, F.: Die Bastarde der Canina-Rosen, ihre Syndese- und Formbildungsverhältnisse. Acta horti Bergiani **14**, Nr 2 (1945). — Flory, W. S. jr.: Pollen condition in some species and hybrids of *Rosa* with a consideration of associated phylogenetic factors. Virginia J. Sci., n. s. **1**, 11—59 (1950). — Hurst, C. C.: Chromosomes and characters in *Rosa* and their significance in the origin of species. Exper. Genet. **38**, 534—550 (1925). — Kihara, H.: Chromosome conjugation in a rose hybrid, *Rosa multiflora* × *R. rugosa*. Jap. J. Genet. **20**, 55—58 (1944). — Lucke-Kramer, E.: Über den Einfluß der Ernährung auf den Pollen einiger Angiospermen. Diss. Kiel 1952. — Mameli Calvino, E.: Ricerche sul polline del genere *Rosa*. Staz. speriment. Floricolt. „O. Raimondo" San Remo, Pubbl. Nr 48, 1950. — Parthasarathy, N.: Chromosome elimination in *Saccharum*. Nature (Lond.) **168**, 383—384 (1951). — Smith-White, S.: Polarised segregation in the pollen mother cells of a stable triploid. Heredity (Lond.) **2**, 119—129 (1948). — Täckholm, G.: On the cytology of the genus *Rosa*. Sv. bot. Tidskr. **14**, 300—311 (1920). — Zytologische Studien über die Gattung *Rosa*. Acta horti Bergiani **7**, Nr 3 (1922). — Tischler, G.: Ein Beitrag zum Verständnis des Certationsproblems bei *Melandrium*. Planta (Berl.) **1**, 332—341 (1926). — Allgemeine Pflanzenkaryologie, 2. Hälfte: Kernteilung und Kernverschmelzung. In Handbuch der Pflanzenanatomie, 2. Aufl., Bd. II. Berlin 1951. — Allgemeine Pflanzenkaryologie, Erg.-Bd.: Angewandte Pflanzenkaryologie. In Handbuch der Pflanzenanatomie, Bd. II, Erg.-Bd., 2. Liefg. Berlin 1954. — Wulff, H. D.: Zytologische Beobachtungen an Rosenbastarden (*R. canina* L. × *R. coriifolia* Fries var. *Froebelii* Rehd. und *R. coriifolia* Fries var. *Froebelii* Rehd. × *R. multiflora* Thunb.). Züchter **22**, 233—244 (1952). — Cytologische Untersuchungen an einem pentaploiden Rosenbastard (*Rosa* hybr. „315") und seiner Nachkommenschaft. Planta (Berl.) **43**, 420—439 (1954a). — Spontane Pentaploidie in den Antheren der diploiden *Rosa ruga* Lindl. Rapp. et Comm. 8. Congr. Internat. Bot. Paris, Sect. 9, S. 92—94, 1954b. — Über das spontane Auftreten einer Caninae-Meiosis bei der Mikrosporogenese der diploiden *Rosa ruga* Lindl. Österr. bot. Z. **1954**c. — Wulff, H. D., u. L. Heldt: Über die Genealogie und Mikrosporogenese der Lambertianarose „Hamburg". Züchter **23**, 87—93 (1953).

Prof. Dr. Heinz Diedrich Wulff,
Kiel, Botanisches Institut, Düsternbrookerweg 17.

Planta, Bd. 44, S. 491—502 (1954).

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Voldagsen.

BEZIEHUNGEN ZWISCHEN PEROXYDASEREAKTION, EIWEISS-SPIEGEL UND CHLOROPHYLLBILDUNG.

Von

PAUL SCHWARZE.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 12. August 1954.)

Physiologische Untersuchungen an gestörten Bastarden der Kreuzung *Phaseolus vulgaris* × *Phaseolus multiflorus* hatten ergeben, daß diese im Vergleich zu normalen Bastarden eine stärkere Peroxydasereaktion und einen niedrigeren Eiweißspiegel zeigen. An Hand weiterer Untersuchungen wird in der vorliegenden Arbeit geprüft, ob diese Beziehung allgemein gilt, wie diese Symptome verknüpft sind und wie sie sich in den Gesamtstoffwechsel der gestörten Pflanzen einordnen. In die Untersuchungen wurde später noch die Katalase einbezogen, da nach gelegentlichen Tastversuchen dieses Ferment bei den untersuchten Formen nur schwach wirksam war.

Da die Mehrzahl der Untersuchungen in einem anderen Zusammenhang durchgeführt wurde, konnte der experimentelle Teil nicht die Abrundung erfahren, die wünschenswert war, doch lassen die vorliegenden Befunde Zusammenhänge sichtbar werden, die einer Veröffentlichung wert erscheinen. In einer kurzen Mitteilung wurde bereits über die wesentlichsten Ergebnisse berichtet (SCHWARZE 1952).

Material und Methoden.

Für die Untersuchungen wurden hauptsächlich gestörte *Phaseolus*-Bastarde, die in der F_1 und in späteren Generationen der Kreuzung *Phaseolus vulgaris* × *Phaseolus multiflorus* auftreten, benutzt, außerdem in kleinerem Umfang gehemmte *Epilobium*-Bastarde der Kreuzung *Epilobium hirsutum* × *Epilobium parviflorum* Tübingen. Versuche über die Beeinflussung der Peroxydasereaktion und des Eiweißspiegels durch Mg-, Fe- und N-Mangel, die eine Hemmung der Chlorophyllsynthese auslösen, und die Wirkung der Verdunklung, die zum Chlorophyllabbau führt, wurden mit *Phaseolus vulgaris*, Sorte Saxa, durchgeführt. Kontrollmaterial waren unter gleichen Bedingungen aufgewachsene normale *Phaseolus*- und *Epilobium*-Bastarde bzw. am Licht und in Komplettnährlösung kultivierte Pflanzen. Die Mangelversuche wurden mit KNOPscher Nährlösung nach den Richtlinien der „Übungen zur Stoffwechselphysiologie der Pflanzen" (PAECH und SIMONIS) angesetzt. Für die Verdunklungsversuche wurden Blatthälften benutzt. Die einen Hälften wurden sofort analysiert, die anderen in großen Kulturschalen auf feuchtes Filtrierpapier ausgelegt, 5 Tage bei 26° im Dunkeln gehalten und dann in der gleichen Weise analysiert. Am Anfang des Versuches wurden Frischgewicht und

Fläche der Blatthälften bestimmt, an vergleichbaren Blattproben außerdem der Trockensubstanzgehalt zu Beginn und am Ende des Versuches.

Herrn Prof. RUDORF bin ich für die Überlassung seines umfangreichen *Phaseolus*-Materials, Herrn Dr. MICHAELIS für die Überlassung der untersuchten *Epilobium*-Bastarde zu Dank verbunden.

Stickstoffbestimmung. Zur Trennung von Eiweiß und löslichen N-Verbindungen wurde Trichloressigsäure benutzt. — Das frisch geerntete Material wird mit 5%iger Trichloressigsäure und Sand fein verrieben, mit weiteren Portionen Fällungsmittel in ein Zentrifugenglas gespült, 10 min auf 70° erwärmt und dann zentrifugiert. Die überstehende Lösung wird abgegossen und der Niederschlag zweimal mit 1%iger Trichloressigsäure gewaschen. Im Niederschlag sowie den vereinigten abgegossenen Lösungen wird der N-Gehalt nach KJELDAHL bestimmt.

Peroxydase- und Katalasebestimmung. Die Peroxydasebestimmungen wurden mit einer speziellen Form der Indophenol-Methode von GUTHRIE, die in Anlehnung an das von ROSS modifizierte Verfahren entwickelt wurde, durchgeführt. Den Katalasebestimmungen liegen die permanganometrische und jodometrische Methode nach EULER bzw. JOLLES und STERN zugrunde. Beide Methoden geben gut übereinstimmende Werte, mit der letzteren arbeitet es sich im allgemeinen leichter, da die Umschläge bei der Titration schärfer sind.

0,5 g frische Blattsubstanz, oder bei aktivem Material die Hälfte, bei wenig aktivem Material die doppelte Menge, werden mit Sand im Mörser fein zerrieben, in einen Meßkolben übergespült und mit destilliertem Wasser zu 25 cm³ aufgefüllt.

Für die Peroxydasebestimmung werden 5 cm³ der Suspension erneut auf 25 cm³ verdünnt und je 5 cm³ dieses Extraktes in 50 cm³-Erlenmeyerkolben mit 5 cm³ Phosphatpuffer ($P_H = 8{,}0$) und 25 cm³ Nadireagens vermischt. Nach 4, 10, 20, 30 und 40 min werden jeweils 5 cm³ des Ansatzes in Reagenzgläser (20 × 100 mm) mit eingeschliffenem Stopfen, die 1 cm³ 0,1%ige KCN-Lösung zum Abstoppen der Reaktion enthalten, abgenommen. Nach Zugabe von je 10 cm³ Petroleumbenzin werden die Gläser 5 min in der Maschine geschüttelt. Dabei geht das gebildete Indophenol praktisch quantitativ in das Petroleumbenzin über, das sich nach kurzem Stehen abtrennt und im Pulfrich-Photometer (Filter S 50, Schichtdicke 0,5—3,0 cm je nach Farbintensität) gemessen werden kann. Die nach dem Schütteln zunächst farblose wäßrige Lösung färbt sich beim Stehen. Der neugebildete Farbstoff stört aber die Bestimmung nicht, da er benzinunlöslich ist. Zur Gewinnung inaktiver Kochsäfte werden je 5 cm³ Extrakt im 50 cm³-Erlenmeyerkölbchen 2 min im kochenden Wasserbad erhitzt. Weitere Einzelheiten über die Methode, die Herstellung der Lösungen usw. finden sich in der Arbeit von ROSS.

Für die Katalasebestimmung werden je nach Aktivität 5 oder 10 cm³ der verdünnten Suspension mit 10 cm³ Phosphatpuffer ($P_H = 6{,}8$—$7{,}0$) und 5 cm³ H_2O_2-Lösung (0,3%) versetzt. Sofort nach Ansatz, dann nach 4, 10, 20 und 30 min werden 2 cm³ des Gemisches in Kölbchen mit je 3 cm³ n/1 Schwefelsäure abpipettiert und nach Fertigstellung der Reihe die einzelnen Abnahmen mit n/50 Kaliumpermanganatlösung titriert. — Bei der jodometrischen Bestimmung werden die abgenommenen Proben in 3 cm³ 33%ige Schwefelsäure einpipettiert, mit 10 cm³ 1%iger Kaliumjodid-Lösung versetzt, durchgeschüttelt und bis zur Titration dunkel aufgehoben. Um die Jodausscheidung zu vervollständigen, werden unmittelbar vor der Titration mit Natriumthiosulfat (n/50) 3 Tropfen gesättigte Molybdänsäure-Lösung zugegeben. Zur Überprüfung der Lösungen wurden Kontrollen angesetzt, die an Stelle des Extraktes destilliertes Wasser enthielten. Zur Herstellung inaktiver Kochsäfte braucht man die Extrakte nur 1 min im siedenden Wasserbad zu erhitzen. Die Katalase ist wesentlich hitzeempfindlicher als die

Peroxydase. Schon Erhitzen auf 80° (1 min) inaktiviert die Katalase praktisch völlig, während die Aktivität der Peroxydase zu etwa 80% erhalten bleibt.

Alle Fermentbestimmungen wurden bei 0° mit vorgekühlten Lösungen und Glasgefäßen durchgeführt.

Als Maß für die Peroxydasereaktion sind die Extinktionskoeffizienten angegeben, als Maß für die Katalasereaktion der Minderverbrauch an n/50 Kaliumpermanganat- oder Natriumthiosulfat-Lösung in Kubikzentimetern im Vergleich zum Kochsaftansatz. Aus Gründen der Raumersparnis wird bis auf wenige Ausnahmen jeweils nur der Stand der Reaktion nach 20 min angegeben.

Bezugsgröße ist in allen Fällen die Frischsubstanz. An den Ergebnissen ändert sich grundsätzlich nichts, wenn die Trockensubstanz, die immer mitbestimmt wurde, als Bezugsgröße benutzt wird.

Die gestörten Pflanzen wurden immer zusammen mit normalen Formen untersucht. Die Einwaagen waren dieselben und auch sonst wurde gleich verfahren, so daß die Zahlen innerhalb eines jeden Ansatzes und meistens auch die verschiedenen Ansätze miteinander verglichen werden können.

Tabelle 1. *Peroxydasereaktion, Katalasereaktion und Verhältnis Eiweiß-N/löslicher N in Blattspreiten von Phaseolus-Bastarden.*

	Peroxydase-reaktion	Katalase-reaktion	Eiweiß-N / lösl. N
Gestörte Bastarde			
314	1,35	6,0	5,0
95	1,20	7,4	6,0
216	0,98	8,2	6,5
178	0,83	8,2	7,2
231	0,72	7,9	7,0
235/3	1,50	4,4	<5,0
234/2	1,60	3,9	4,8
228	1,40	4,0	5,0
Normale Bastarde			
(314)	0,35	8,2	9,9
(95)	0,29	7,5	9,0
(216)	0,38	7,8	8,8
(178)	0,37	8,0	8,6
(231)	0,23	7,5	8,4
(235/3)	0,22	9,2	8,4
(234/2)	0,27	7,0	9,5
(228)	0,30	7,2	9,8

Werte für Peroxydase: Extinktionen nach 20 min.

Werte für Katalase: In 20 min zerlegtes H_2O_2 (cm^3 n/50 Lösung).

Bezugsgröße: Frischsubstanz.

Ergebnisse.

Phaseolus - Bastarde. Eine genaue Charakteristik der gehemmten *Phaseolus* - Bastarde, über deren Entstehung und Eigenschaften Rudorf bereits kurz berichtet hat, soll an anderer Stelle gegeben werden. Es wurden für die Untersuchungen in der Hauptsache Typen mit stärkeren Abweichungen benutzt: Niedrige Pflanzen mit kleinen, spröden, oft stark gewellten Blättern. Alle diese Formen zeigten Symptome, die auf eine Hemmung der Chlorophyllbildung oder Zerstörung des Chlorophylls aus inneren Ursachen schließen ließen.

In einer großen Zahl dieser Bastarde wurde die Peroxydase bestimmt. Ergebnisse sind nur von den Typen mitgeteilt, bei denen auch das Verhältnis Eiweiß-N/lösl. N ermittelt wurde. Die Zahlen (Tabelle 1) lassen erkennen, daß bei allen gestörten Bastarden die Peroxydasereaktion

zum Teil stark erhöht und das Verhältnis Eiweiß-N/lösl. N herabgesetzt ist. Die Katalasereaktion ist nur bei einem Teil der Bastarde geschwächt, bei anderen ist kein Unterschied gegenüber normalen Bastarden oder anderweitigen Kontrollen festzustellen. Zur ersten Gruppe gehören Bastarde mit starken Chlorophylldefekten, zur zweiten solche Bastarde, die nur schwache Aufhellung der gesamten Blattlamina oder wenige helle Flecken zeigen. In keinem Fall war eine Verstärkung der Katalasereaktion nachzuweisen. Schwächerwüchsige Bastarde ohne Chlorophylldefekte unterscheiden sich in der Peroxydase- und Katalasereaktion sowie im Verhältnis Eiweiß-N/lösl. N nicht von normal entwickelten Bastarden.

Tabelle 2. *Peroxydasereaktion, Katalasereaktion und Verhältnis Eiweiß-N/löslicher N in Blättern von Epilobium-Bastarden (Epilobium hirsutum Essen ♀ × Epilobium parviflorum Tübingen ♂ [gehemmt] und reziproke Kreuzung [normal]).*

	Peroxydase-reaktion	Katalase-reaktion	Eiweiß-N / lösl. N
Gehemmte Bastarde			
1	0,33	4,8	6,7
2	0,35	5,0	6,0
3	0,30	4,3	6,3
4	0,30	4,9	7,5
Normale Bastarde			
1	0,09	4,4	13,3
2	0,10	4,0	12,4
3	0,11	4,3	11,8
4	0,11	4,8	12,2

Werte für Peroxydase: Extinktionen nach 20 min.

Werte für Katalase: In 20 min zerlegtes H_2O_2 (cm^3 n/50 Lösung).

Bezugsgröße: Frischsubstanz.

Epilobium-Bastarde. Bastarde dieser Kreuzungen sind von MICHAELIS beschrieben und von Ross physiologisch analysiert worden. Untersucht wurde eine stark verzwergte Form mit kleinen, gewellten, hell-dunkelgrün gesprenkelten Blättern und zum Vergleich ein normal entwickelter reziproker Bastard. Auch hier war die Peroxydasereaktion viel intensiver als beim normalen Bastard und der Eiweißspiegel lag wesentlich niedriger als bei diesem. In der Katalasereaktion ist ein sicherer Unterschied nicht zu erkennen (Tabelle 2).

Nährstoffmangelversuche. Untersucht wurden Primär- und erste Folgeblätter, die bei den Kontrollen eine normal grüne, bei den Mangelpflanzen gelbgrüne (Primärblätter) bzw. gelbe bis fast weiße Färbung zeigten. Die Blätter der Mangelpflanzen enthielten also wenig oder praktisch gar kein Chlorophyll. Die Peroxydasereaktion war bei den Fe-Mangelpflanzen stark, bei den N-Mangelpflanzen weniger stark geschwächt, während sie bei den Mg-Mangelpflanzen eine sehr starke Steigerung erfahren hatte. Bei gleicher Richtung der Veränderungen in beiden Blattarten waren die Ausschläge in den chlorophyllfreien

Folgeblättern wesentlich stärker als in den chlorophyllarmen Primärblättern. In allen Mangelkulturen lag das Verhältnis Eiweiß-N/lösl. N niedriger als in den Kontrollpflanzen (Tabelle 3, Abb. 1).

Tabelle 3. *Einfluß von Stickstoff-, Magnesium- und Eisenmangel auf die Peroxydasereaktion und das Verhältnis Eiweiß-N/löslicher N.*

	Kontrolle	— N	— Mg	— Fe
Peroxydase:				
Vers. 1	0,24	0,20	0,44	0,15
Vers. 2	0,25	0,21	0,46	0,13
Eiweiß-N/lösl. N	8,92	6,30	5,71	6,95

Material: Primärblätter von *Phaseolus vulgaris*.
Werte für Peroxydase: Extinktionen nach 20 min.
Bezugsgröße: Frischsubstanz.

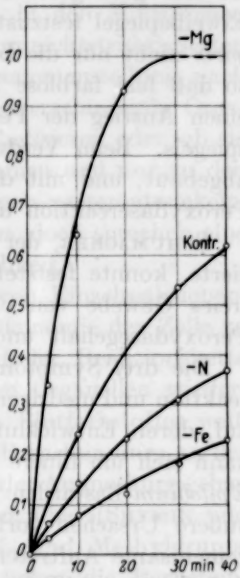

Abb. 1. Der Einfluß von Stickstoff-, Magnesium- und Eisenmangel auf die Peroxydasereaktion. Material: Folgeblätter von *Phaseolus vulgaris*. Werte für Peroxydase: Extinktionen nach 4—40 min. (Ord.)

Verdunklungsversuche. Es ist bekannt, daß abgeschnittene Blätter, besonders wenn sie verdunkelt werden, rasch Eiweiß abbauen und dafür eine entsprechende Menge löslicher N-Verbindungen anhäufen. Wie die in Tabelle 4 dargestellten Versuche an *Phaseolus*-Blättern zeigen, ist der Eiweißverlust von einem Anstieg der Peroxydasereaktion begleitet, was bereits SCHUMACHER feststellen konnte. Eine wesentliche Änderung der Katalasereaktion ist nicht zu beobachten, die

Tabelle 4. *Einfluß der Verdunklung auf die Peroxydasereaktion, Katalasereaktion und den Eiweißspiegel (Eiweiß-N/lösl.N). Eiweiß-N und löslicher N an anderen, aber gleich alten und gleich behandelten Blättern bestimmt.*

Blatt Nr.	Vor der Verdunkelung: Peroxydase	Katalase	Eiweiß-N / lösl. N	Nach der Verdunkelung: Peroxydase	Katalase	Eiweiß-N / lösl. N
1	0,20	1,4	9,8	0,58	1,0	7,2
2	0,22	1,0	10,2	0,56	1,4	6,9
3	0,22	1,6	11,0	0,56	1,4	7,5
4	0,20	1,2	10,4	0,56	1,4	6,5

Werte für Peroxydase: Extinktionen nach 20 min.
Werte für Katalase: In 20 min zerlegtes H_2O_2 (cm^3 n/50 Lösung).
Bezugsgröße: Frischsubstanz zu Beginn des Versuches.

Verdunklung ist aber mit einem Chlorophyllabbau verbunden, wie die Vergilbung der Blätter erkennen läßt.

Besprechung der Ergebnisse.

Bei den gestörten *Phaseolus*-Bastarden, soweit sie Chlorophylldefekte aufweisen, desgleichen bei den gestörten *Epilobium*-Bastarden ist eine gesteigerte Peroxydasereaktion und gleichzeitig ein niedriger Eiweißspiegel festzustellen. Magnesiummangel löst bei *Phaseolus vulgaris* nicht nur die bekannte Hemmung der Chlorophyllsynthese aus, so daß fast farblose Blätter entstehen können, sondern bewirkt auch einen Anstieg der Peroxydasereaktion und ein Absinken des Eiweißspiegels. Beim Verdunkeln abgeschnittener Blätter wird Chlorophyll abgebaut, und mit diesem Chlorophyllschwund geht ein Anstieg der Peroxydasereaktion und ein Abfall des Eiweißspiegels einher.

SCHUMACHER, der den Stoffwechsel panaschierter Pflanzen analysierte, konnte feststellen, daß sich chlorophyllarmes und chlorophyllfreies Gewebe von normalgrünen Partien u. a. durch einen höheren Peroxydasegehalt und einen niedrigeren Eiweißspiegel unterscheidet.

Die drei Symptome — Chlorophylldefekt, gesteigerte Peroxydasereaktion und niedriger Eiweißspiegel — treten also vereint bei Objekten auf, deren Entwicklungsstörungen ganz verschieden bedingt sind. Es kann sich um innere Störungen handeln, wie bei den *Phaseolus*- und *Epilobium*-Bastarden und bei den Panaschüren, es können aber auch äußere Ursachen vorliegen, wie Licht- oder Nährstoffmangel. Dieses gemeinsame Auftreten der drei Symptome legt die Vermutung nahe, daß enge ursächliche Beziehungen zwischen ihnen bestehen.

Chlorophyll und die prosthetische Gruppe der Peroxydase sind Porphyrine wie eine Reihe anderer wichtiger Zellbestandteile, z. B. die Katalase, die Cytochromoxydase, die Cytochrome selbst und das Hämoglobin. Nach allem, was wir über den Porphyrinstoffwechsel von Tier und Pflanze wissen, läuft die Synthese dieser verschiedenen Porphyrine über das Protoporphyrin, ein Tetrapyrrol mit vier Methyl-, zwei Vinyl- und zwei Carboxylgruppen. GRANICK hat das Protoporphyrin als Chlorophyllvorstufe nachweisen können. Durch Behandlung von *Chlorella*-Kulturen mit Röntgenstrahlen erhielt er u. a. Mutanten, die unfähig zur Chlorophyllsynthese sind. Eine dieser Mutanten häuft an Stelle von Chlorophyll Protoporphyrin, eine andere Magnesiumprotoporphyrin an. Aus letzterem entsteht in nichtmutierten Zellen durch eine Reihe weiterer Reaktionsschritte (Veresterung mit Phytol, Bildung des Phorbinringes usw.) das Chlorophyll. Das Protoporphyrin ist aber sicherlich auch eine Vorstufe aller anderen Zellporphyrine. Wird nicht Magnesium, wie bei der Chlorophyllsynthese, sondern Eisen in den Ring des Protoporphyrins eingelagert, so entstehen die Porphyrinkomponenten des Hämoglobins, der Cytochrome, der Cytochromoxydase, der Peroxydase und der Katalase. Die prosthetische Gruppe der Katalase besteht aus zwei Hämatin- und zwei Biliverdinresten, während die

anderen Porphyrinverbindungen nur je einen Eisenporphyrinrest im Molekül enthalten.

Die Porphyrine sind an ganz verschiedenen Stellen der Zelle lokalisiert, in den Chloroplasten (Chlorophyll, Katalase), in den Mitochondrien (Katalase, Cytochrome und Cytochromoxydase), in den Mikrosomen (Katalase, Cytochrome), und sicherlich sind auch im nichtstrukturierten Teil des Cytoplasmas Porphyrine enthalten (Zusammenstellung nach LANG). Es erhebt sich die wichtige Frage, ob die verschiedenen Organelle die Porphyrine jeweils von Grund aus synthetisieren oder ob sie diese, etwa in Form des Protoporphyrins, aufnehmen und nur zu den für die einzelnen Organelle spezifischen Porphyrinen weiterentwickeln. Die Frage läßt sich noch nicht sicher beantworten, doch sprechen eine Reihe von Beobachtungen für die zweite Möglichkeit.

Zu den Porphyrinen führt eine lange Kette von Einzelreaktionen. Es ist wenig wahrscheinlich und kaum mit der Ökonomie der Zelle zu vereinbaren, daß sich die vielen für den Ablauf der Reaktionskette erforderlichen Voraussetzungen in den zahlreichen Organellen wiederholen: Aus Untersuchungen über die Genese des Blutfarbstoffes weiß man, daß Glykokoll, Acetat und ein Derivat der Bernsteinsäure an der Biosynthese dieses Porphyrins beteiligt sind. Von der Aminosäure gehen in das Porphyrin das N-Atom und das α-C-Atom über (SHEMIN und RITTENBERG), von der Essigsäure die Carboxyl- und Methylgruppe (WITTENBERG und SHEMIN). Weitere C-Atome liefert die Bernsteinsäure oder ihr Halbaldehyd (SHEMIN und KUMIN). Es entsteht zunächst ein Monopyrrol, das wahrscheinlich mit den bei gewissen Störungen des Porphyrinstoffwechsels im Harn erscheinenden Porphobilinogen identisch ist (COOKSON, RIMINGTON und KENNARD). Nach FALK, DRESEL und RIMINGTON wird diese Verbindung durch Erythrocytenhämolysate leicht in Uro- und Protoporphyrin übergeführt. Die an der Umwandlung beteiligten Fermente gehen beim Zentrifugieren (15000 g bei 2°) nicht in den Niederschlag über, gehören also nicht dem granulären Teil des Plasmas an, sondern finden sich in der überstehenden Lösung. Wenn auch für eine vollständige Trennung die angewandte Kraft vielleicht zu gering ist, so wurde doch mindestens ein Teil der Mitochondrien zu Boden geschlagen, was bedeutet, daß diese Strukturelemente des Plasmas nicht in der Lage sind, die in ihnen lokalisierten Porphyrine zu synthetisieren. In die gleiche Richtung deuten Untersuchungen von JENSEN und THOFERN an einer häminheterotrophen Mutante von *Micrococcus pyogenes*, die ohne Häminzusätze zum Nährboden keine Atmungsfermente (Cytochrome), keine Katalase und wahrscheinlich auch keine anderen Porphyrinproteide bilden kann. Bei Zuführung von Hämin setzt nicht nur normale Atmung ein, sondern es lassen sich auch Katalase und mehrere Cytochrome nachweisen. Dieser Befund zeigt, daß

die Synthese der Porphyrinproteide in den Organellen von einem fertigen Porphyrin ausgehen und ein und dasselbe Porphyrin für die Synthese verschiedener Proteide, die sicherlich auch verschiedenen Organellen angehören, dienen kann.

Es ist also wahrscheinlich, daß die Zellorganelle das Porphyrin als solches aufnehmen und in ihre Struktur einbauen, und es ist weiterhin wahrscheinlich, daß diese, da verschiedene Organellarten ihren Bedarf aus einer gemeinsamen Quelle schöpfen, um das Porphyrin konkurrieren. Fällt eine Organellart ganz oder teilweise aus, so muß es zur Begünstigung der anderen kommen. Ist z. B. in Zellen, die in ihrer sonstigen Organisation darauf eingestellt sind, die Chlorophyllsynthese gehemmt, so wird die Bildung anderer Porphyrine, z. B. der Peroxydase gefördert sein. Dieser Fall ist bei den chlorophylldefekten *Phaseolus*- und *Epilobium*-Bastarden, bei einigen der von SCHUMACHER analysierten Panaschüren und bei Magnesiummangel gegeben. Im letzteren Fall wird kein Chlorophyll gebildet, weil der Chlorophyllbaustein Magnesium fehlt. Die Grundsynthese der Porphyrine ist nicht oder weniger stark gehemmt, wie man aus der Zunahme der Peroxydase erkennen kann. Bei Fe- und N-Mangel unterbleibt die Chlorophyllsynthese, es kann aber auch nicht zu einer Vermehrung der Peroxydase kommen, weil beide Elemente Bestandteile dieses Fermentes sind. Bei den Panaschüren und teilweise auch bei den Bastarden liegen wohl Chloroplastendefekte vor, bei den extrem kleinblättrigen Bastarden kann die Hemmung der Chlorophyllsynthese auch mit dem Ausbleiben der Zellstreckung im Zusammenhang stehen. In kleinen Zellen ist das Wachstum der Chloroplasten und dementsprechend auch ihr Aufnahmevermögen für Porphyrin begrenzt, was ebenfalls die Bildung anderer Porphyrinproteide begünstigen wird.

Diese Vorstellung über die Beziehung zwischen Chlorophyllsynthese und Peroxydasereaktion wird auch durch folgende Beobachtungen gestützt: Chlorophyllreiche Organe normaler Pflanzen (Blätter) enthalten wenig, chlorophyllarme oder -freie Teile (Maiskoleoptile, Stengel, Wurzel) viel Peroxydase (SCHWARZE). Chlorophyllfreie Epidermiszellen geben eine wesentlich stärkere Peroxydasereaktion als die benachbarten chlorophyllreichen Mesophyllzellen. Ob das von GOODWIN, KOSKI und OWENS in Epidermiszellen von *Vicia*-Sprossen aufgefundene Porphyrin — es handelt sich wahrscheinlich um Uroporphyrin — mit der Unterdrückung der Chlorophyllsynthese in Verbindung zu bringen ist, muß noch geprüft werden, ebenso die Frage, ob, was allerdings nicht sehr wahrscheinlich ist, ein Zusammenhang zwischen der Bildung der pyrrolringhaltigen Alkaloide, deren Entstehungsort in vielen Fällen gerade die Wurzel ist, und dem Unvermögen dieses Organs zur Chlorophyllsynthese besteht.

Die Verstärkung der Peroxydasereaktion bei Chlorophyllabbau (Aufhellung der Blätter bei Verdunklung) könnte bedeuten, daß Abbauprodukte auftreten, die zur Bildung anderer Porphyrine benutzt werden können oder anderweitig deren Entstehung begünstigen.

Bei einigen *Phaseolus*-Bastarden entsprach einem extrem hohen Peroxydasegehalt ein niedriger Katalasegehalt, so daß der Eindruck entstand, die Vermehrung der Peroxydase sei auf Kosten der Katalase vor sich gegangen. Peroxydase ist ein Porphyrineiweiß, dessen Apoferment das Molekulargewicht 44000 besitzt, also relativ klein ist, und je Molekül Eiweiß ein Molekül Hämin enthält. Das Apoferment der wesentlich größeren Katalase hat ein Molekulargewicht von 248000 und die prosthetische Gruppe ist aus zwei Hämatin- und zwei Biliverdinresten zusammengesetzt (THEORELL nach BONNER). Es ist vorstellbar, daß durch Zerfall des Katalasemoleküls, seines Apo- und seines Cofermentes, Peroxydase entsteht oder umgekehrt aus Peroxydase die höhermolekulare Katalase gebildet wird. Die Fälle, in denen einem erhöhten Peroxydasegehalt ein niedriger Katalasegehalt entspricht, sind aber selten. Nur bei starken Chlorophylldefekten, z. B. völlig chlorophyllfreien Geweben von pergamentartigem Aussehen sind diese gegensinnigen Verschiebungen von Peroxydase und Katalase festzustellen. Meist ist die Katalase wenig verändert, auch wenn die Peroxydase eine namhafte Steigerung erfahren hat. Über den umgekehrten Fall berichten v. EULER, FOSSBERG, RUNEHJELM u. HELLSTRÖM. Sie untersuchten eine Reihe chlorophylldefekter Gerstenmutanten, die nach Röntgenbestrahlung entstanden waren. Diese zeigten eine stark geschwächte Katalasereaktion, während sie sich in der Peroxydasereaktion von normalen Pflanzen derselben Ausgangsrasse nicht unterschieden. Hier könnte eine Hemmung der Grundsynthese der Porphyrine vorliegen, die sich nur deshalb nicht auf den Peroxydasegehalt auswirkt, weil die Pflanzen außerdem mit starken Chloroplastendefekten behaftet sind, die einer Chlorophyll- und Katalasebildung — die Chloroplasten sind ja nicht nur Chlorophyll- sondern auch Kataloseträger — im Wege stehen.

Die Verknüpfung des Porphyrinstoffwechsels mit dem Eiweißstoffwechsel wird verständlich, wenn man in Betracht zieht, daß die Porphyrine in der Zelle hauptsächlich oder nur in Form von Proteiden vorkommen. Die Porphyrinfermente Peroxydase, Katalase und Cytochromoxydase sind ebenso Proteide wie die verschiedenen Cytochrome, und auch der Blutfarbstoff Hämin und der Pflanzenfarbstoff Chlorophyll sind immer nur als Eiweißverbindungen vorhanden. Defekte im Porphyrinstoffwechsel können sich deshalb auf den Eiweißstoffwechsel auswirken, und Defekte im Eiweißstoffwechsel können den Porphyrinstoffwechsel in Mitleidenschaft ziehen. In diesem Fall muß an einen

mehr indirekten Zusammenhang gedacht werden: Bei stark gestörter Chlorophyllbildung wird die Photosynthese geschwächt und der Kohlenhydratspiegel, von dessen Höhe wiederum der Eiweißgehalt und das Verhältnis Eiweiß-N/lösl. N abhängt, erniedrigt sein. Doch kommt es nicht allein auf diesen an, vielmehr scheinen noch andere Faktoren eine Rolle zu spielen, z. B. die Art und Menge der vorhandenen freien Aminosäuren (Literatur bei BONNER). Schließlich kann das Absinken des Eiweißspiegels auch mit der durch Zunahme der Peroxydase verursachten Verschiebung des Redoxpotentials zusammenhängen.

Peroxydase und Katalase konkurrieren um das im Zellstoffwechsel entstehende Wasserstoffperoxyd. Die Katalase zerlegt es in Wasser und molekularen Sauerstoff, während die Peroxydase mit Hilfe des Peroxydsauerstoffes Zellbestandteile, Mono- und Diphenole, aromatische Amine u. a. dehydriert. Katalase und Peroxydase sind also Antagonisten in dem Sinne, als erstere das Wasserstoffperoxyd zerlegt und von einem Angriff auf Zellsubstanzen fernhält, letztere aber gerade die Oxydation von Stoffwechselprodukten mit Hilfe von Wasserstoffperoxyd vermittelt. Diese Vorstellung läßt sich wahrscheinlich nicht in vollem Maß aufrechterhalten, da sich die Katalase unter bestimmten Bedingungen wie Peroxydase verhält, also ebenfalls die Oxydation von Zellstoffen vermittelt (KEILIN und HARTREE). Was es für den Stoffwechsel bedeutet, ob das Wasserstoffperoxyd auf die eine oder andere Weise beseitigt wird, wissen wir nicht. Denkbar ist, daß bei einem Überhandnehmen der Peroxydase Stoffe oxydiert werden, die für eine normale Entwicklung unentbehrlich sind. Danach dürfte es nicht so sehr auf die absoluten Gehalte, sondern auf das Mengenverhältnis beider Fermente ankommen. Da ein Teil der untersuchten *Phaseolus*-Bastarde starke Wuchshemmungen zeigte, lag es nahe zu prüfen, ob Gewebe mit normaler und starker Peroxydasereaktion β-Indolylessigsäure verschieden rasch abbauen, zumal nach GALSTON, BONNER und BAKER Peroxydase neben einem Flavoprotein Bestandteil der Indolylessigsäure-Oxydase ist. Die bisherigen Untersuchungen lassen aber eine derartige Beziehung nicht erkennen.

In den geschilderten Untersuchungen wurde nur die Peroxydase, in vereinzelten Fällen auch die Katalase bestimmt und mit den Veränderungen der Chlorophyllsynthese in Verbindung gebracht. Es muß aber angenommen werden, daß analoge Beziehungen auch zwischen den anderen Porphyrinen und der Chlorophyllsynthese bestehen. Da die Porphyrine hochaktive Stoffe sind, werden Änderungen ihrer Menge den Zellstoffwechsel tiefgehend beeinflussen. Es darf daher erwartet werden, daß ein umfassenderes Studium der dargelegten Zusammenhänge unsere Kenntnisse über den Stoffwechsel und seine verschiedenen Erscheinungsformen, wie sie sich unter dem Einfluß innerer und äußerer Faktoren herausbilden, vertiefen wird.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Zusammenfassung.

Bei Bastarden der Kreuzung *Phaseolus vulgaris* × *Phaseolus multiflorus* sowie *Epilobium*-Bastarden der Kreuzung *Epilobium hirsutum* × *Epilobium parviflorum*, die im Wuchs stark gehemmt sind und mehr oder weniger ausgeprägte Chlorophylldefekte zeigen, ist die Peroxydasereaktion stark erhöht und der Eiweißspiegel (Eiweiß-N/lösl. N) erniedrigt.

Magnesiummangel löst bei *Phaseolus vulgaris* die bekannte Hemmung der Chlorophyllsynthese aus und bewirkt außerdem einen Anstieg der Peroxydasereaktion und ein Absinken des Eiweißspiegels.

Abgeschnittene Blätter verlieren beim Verdunkeln Chlorophyll, gleichzeitig nimmt die Peroxydasereaktion zu und geht der Eiweißspiegel zurück.

Bei *Phaseolus*-Bastarden mit starken Chlorophylldefekten geht der Anstieg der Peroxydasereaktion mit einem Abfall der Katalasereaktion einher.

Diese Befunde decken sich weitgehend mit den Feststellungen Schumachers an weißen Partien panaschierter Gewebe, deren Stoffwechsel ebenfalls durch einen niedrigen Eiweißspiegel, starke Peroxydase- und in manchen Fällen schwache Katalasereaktion gekennzeichnet ist.

Da diese Symptome vereint bei Objekten auftreten, deren Entwicklungsstörung ganz verschieden bedingt ist, darf angenommen werden, daß ein enger ursächlicher Zusammenhang zwischen ihnen besteht.

Die prosthetische Gruppe der Peroxydase ist ein Eisenporphyrin, das nahe mit dem von Granick als Chlorophyllvorstufe erkannten Protoporphyrin verwandt ist. Wird aus inneren oder äußeren Ursachen die Chlorophyllsynthese gehemmt, so steht mehr Protoporphyrin für die Synthese der anderen Zellporphyrine, u. a. der Peroxydase zur Verfügung, da es wahrscheinlich ist, daß die Synthese aller Porphyrine über das Protoporphyrin läuft und die Chloroplasten sowie die anderen Zellorganelle das Porphyrin nicht von Grund aus aufbauen, sondern fertiges Porphyrin aus einer gemeinsamen Quelle entnehmen und lediglich zu den für sie spezifischen Porphyrinen umbauen.

Da die Porphyrine in Form von Proteiden in der Zelle vorkommen, ist verständlich, daß Porphyrin- und Eiweißstoffwechsel eng miteinander verknüpft sind. In diesem Fall scheint ein mehr indirekter Zusammenhang ausschlaggebend zu sein: Bei gestörter Chlorophyllbildung ist die Intensität der Photosynthese vermindert und der Kohlenhydratspiegel, von dessen Höhe wiederum der Eiweißgehalt und das Verhältnis Eiweiß-N/lösl. N abhängt, erniedrigt.

Literatur.

Bonner, J.: Plant Biochemistry. New York 1950. — Chance, B.: The Enzymes (Sumner-Myrbäck), Bd. II, Teil 1. New York 1951. — Cookson, G. H.,

C. Rimington u. O. Kennard: Zit. nach Falk, Dresel u. Rimington. — Euler, H. v.: Chemie der Enzyme. II. Spezielle Chemie der Enzyme. 3. Absch. Die Katalasen und die Enzyme der Oxydation und Reduktion. München 1934. — Euler, H. v., A. Fossberg, D. Runehjelm u. H. Hellström: Zur chemischen Charakterisierung von erblichen Chlorophylldefekten. Z. Abstammgslehre **59**, 131 (1931). — Falk, J. E., E. J. B. Dresel and C. Rimington: Porphobilinogen as a porphyrin precursor, and interconversion of porphyrins, in a tissue system. Nature (Lond.) **172**, 292 (1953). — Galston, A. W., J. Bonner and R. S. Baker: Flavoprotein and peroxydase as constituents of the indoleacetic acid oxydase of peas. Amer. J. Bot. **37**, 677 (1950). — Goodwin, H., V. M. Koski and O. H. Owens: The distribution and properties of a porphyrin from the epidermis of *Vicia* shoots. Amer. J. Bot. **38**, 629 (1951). — Granick, S.: Protoporphyrin 9 as a precursor of chlorophyll. J. of Biol. Chem. **172**, 717 (1948). — Magnesium protoporphyrin as a precursor of chlorophyll in *Chlorella*. J. of Biol. Chem. **177**, 333 (1949). — Guthrie, J. D.: A method for the determination of peroxydase activity. J. Amer. Chem. Soc. **53**, 242 (1931). — Jensen, J., u. E. Thofern: Chlorhämin (Ferriporphyrinchlorid) als Bakterienwuchsstoff. I. Z. Naturforsch. 8b, 599 (1953). — Chlorhämin (Ferriporphyrinchlorid) als Bakterienwuchsstoff. II. Zur Synthese der Hämatinfermente. Z. Naturforsch. 8b, 604 (1953). — Lang, K.: Lokalisation der Fermente und Stoffwechselprozesse in den einzelnen Zellbestandteilen und deren Trennung. In „Mikroskopische und chemische Organisation der Zelle". Berlin: Springer 1952. — Michaelis, P.: Über reziprok verschiedene Sippenbastarde bei *Epilobium hirsutum*. I. Die reziprok verschiedenen Bastarde der *Epilobium hirsutum*-Sippe Jena. Z. Abstammgslehre **78**, 187 (1940). — Paech, K., u. W. Simonis: Übungen zur Stoffwechselphysiologie der Pflanzen. Berlin: Springer 1952. — Ross, H.: Über die Verschiedenheiten des dissimilatorischen Stoffwechsels in reziproken *Epilobium*-Bastarden und die physiologisch genetische Ursache der reziproken Unterschiede. III. Über die jährlichen Variationen der Peroxydaseaktivität bei *Epilobium hirsutum* und die Unterschiede bei den Sippen. Planta (Berl.) **33**, 161 (1942). — Rudorf, W.: Neue Beobachtungen an Bastarden von *Phaseolus vulgaris* L. × *Phaseolus multiflorus* Lam. und *Ph. multiflorus* × *Ph. vulgaris*. Vortr., gehalten anläßl. der Genetikertagg in Bellagio im August 1953. — Schumacher, W.: Ein Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels panaschierter Pflanzen. Planta (Berl.) **5**, 161 (1928). — Schwarze, P.: Beziehungen zwischen Eiweißspiegel, Peroxydasereaktion und Chlorophyllbildung. Naturwiss. **39**, 501 (1952). — Über die Verteilung von Peroxydase und Katalase in jungen Maispflanzen. Unveröffentlicht. — Shemin, D., and S. Kumin: The mechanism of porphyrin formation. The formation of a succinyl intermediate from succinate. J. of Biol. Chem. **198**, 827 (1952). — Shemin, D., and D. Rittenberg: The biological utilization of glycine for the synthesis of the protoporphyrin of hemoglobin. J. of Biol. Chem. **166**, 621 (1946). — Wittenberg, J., and D. Shemin: The location in porphyrine of the carbon atoms derived from the α-carbon atoms of glycine. J. of Biol. Chem. **185**, 103 (1950).

Dr. Paul Schwarze, Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Voldagsen über Elze (Hann.).

Planta, Bd. 44, S. 503—508 (1954).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Münster i. Westf.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE PLASTIDEN IN DEN EPIDERMISZELLEN VON *SPINACIA OLERACEA* L.

Von

HANS KAJA.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. Juli 1954.)

In einer kürzlich erschienenen Arbeit berichten ALSCHER und LAVIN (1953) über das Vorkommen von Chloroplasten in den Zellen der Blattepidermis von *Spinacia oleracea* L. Die Verfasser verwendeten für ihre Untersuchungen Ausstrichpräparate homogenisierter Spinatblätter, abgezogene Epidermen und Gefrierschnitte von frischem und formolfixiertem Material. Sie fanden dabei in den Epidermiszellen kleine runde, gefärbte „Granula" und zwar 1. hellgrün gefärbte Granula von 1,1 μ Durchmesser und 2. gelbgrüne Granula von 1,2 μ Durchmesser. Diese Granula zeigen im polarisierten Licht Doppelbrechung und sollen gelegentlich im UV-Licht rot fluorescieren. ALSCHER und LAVIN vergleichen daher die Granula mit den aus verletzten Chloroplasten der Mesophyllzellen herausgelösten Grana, denen sie in ihren Eigenschaften ähneln sollen. Aus diesen Beobachtungen wird der Schluß gezogen, daß es sich bei den in der Epidermis vorgefundenen Strukturen um „Chloroplastenanlagen" (basic chloroplasts) oder möglicherweise um degenerierte Chloroplasten handelt.

Nach den Beschreibungen der Verfasser lag es nahe, bei den beobachteten Gebilden an *Proplastiden* zu denken. Die der Arbeit beigegebenen Mikrophotographien lassen hier jedoch keinen eindeutigen Schluß zu, weshalb diese Frage im folgenden untersucht werden soll.

Für die Untersuchungen wurden kräftige, erwachsene Pflanzen von *Spinacia oleracea* L. (Matador I Gr.) verwendet. Es wurde vorzugsweise lebendes Material untersucht. Zu diesem Zweck wurden die Blätter stets erst unmittelbar vor dem Gebrauch der Kultur entnommen. Sodann wurden mit einem scharfen Rasiermesser Flächenschnitte von der Ober- und Unterseite der Blätter angefertigt. Zur größtmöglichen Schonung der Epidermiszellen wurden die Schnitte so geführt, daß stets noch die unmittelbar unter der Epidermis liegende Mesophyllschicht erfaßt wurde. Die Schnitte wurden dann in einen auf einem Objektträger befindlichen Tropfen einer 0,1 mol. Traubenzuckerlösung übertragen und vorsichtig ohne Druck mit dem Deckglas bedeckt. Das so hergestellte Präparat wurde schließlich in einem kleinen Rezipienten mit Hilfe der Wasserstrahlluftpumpe von der die Beobachtung beeinträchtigenden Intercellularenluft befreit (vgl. STRUGGER 1949).

Für die mikroskopischen Untersuchungen stand ein binokulares Forschungsmikroskop (Stativ BST) von Leitz mit 1/12 Ölimmersion n. A. 1,3 (Vergr. 100×) und 1/16 Fluoritölimmersion n. A. 1,32 (Vergr. 114×) zur Verfügung. Als Beleuchtung diente die Niedervolt-Mikroskopierleuchte Monlafix von Leitz.

Die Zellen der Blattepidermis haben eine maximale Ausdehnung von 50—60 μ. Im Zellinnern erkennt man breite Cytoplasmastränge, in deren Strom sich Sphaerosomen und Chondriosomen durch die Zelle bewegen. Besonders reichlich findet man diese Cytoplasmastränge an der an das Mesophyll angrenzenden Zellmembran. Hier liegt gewöhnlich auch der Zellkern. Er hat einen Durchmesser von 12 μ, ist schwach lichtbrechend und zeigt eine regelmäßig granulierte Struktur. Es wurden grundsätzlich nur einwandfrei lebende Zellen untersucht, in denen die Plasmakonfiguration dieser Beschreibung entsprach. Geschädigte Zellen mit sistierter Plasmaströmung und grob koagulierten, unregelmäßig strukturierten Zellkernen kamen für die Beobachtungen nicht in Betracht.

Im Cytoplasmawandbelag der an das Mesophyll angrenzenden Membran der Epidermiszellen findet man in wechselnder Zahl blaßgrüne Plastiden, gelegentlich umgibt auch eine Gruppe von 3—5 Plastiden den Zellkern. Die Plastiden zeigen ihre runde bis ovale Flächenansicht und schwanken in ihrem Durchmesser zwischen 2,5 und 3,5 μ. Eine genauere Durchsuchung der Zellen läßt einige weitere Plastiden an den Epidermisantiklinen auffinden, wo sie ihre linsenförmige Profilansicht erkennen lassen. An der an das Außenmedium angrenzenden Membran der Epidermiszellen fehlen die Plastiden völlig. Zählungen ergeben für die Epidermiszellen einen Durchschnitt von 15—18 Plastiden. Abb. 1 zeigt eine solche Zelle, aus der die beschriebenen Verhältnisse deutlich hervorgehen.

Im Vergleich zu den intensiv grün gefärbten Plastiden der Mesophyllzellen muß die Färbung der Plastiden in der Epidermis als blaßgrün bezeichnet werden. Die Grünfärbung ist jedoch noch sehr deutlich wahrnehmbar, und Untersuchungen im UV-Licht lassen eine eindeutige Rotfluorescenz erkennen. Durch den geringen Chlorophyllgehalt wird das Aufsuchen der Grana erheblich erschwert. Mit bester Optik ist es aber durchaus möglich, dieselben als regelmäßig angeordnete, blaßgrüne Scheibchen im farblosen Plastidenstroma zu beobachten. Die Plastiden enthalten je nach ihrer Größe in der Flächenansicht 10—16 Grana (vgl. Abb. 2).

Auch die Grana der an den Antiklinen im Profil sichtbaren Plastiden lassen sich bei einiger Übung leicht auffinden. Sie sind den Plastiden in regelmäßiger, geldrollenartiger Anordnung eingelagert (vgl. STRUGGER 1952). In der Regel kann man 5—6 derartige Geldrollen auszählen, die am Plastidenrand 2—3, in der Mitte des Plastids jedoch 3—4 Grana enthalten. Die Plastiden sind äußerst empfindlich gegen Schädigungen

verschiedenster Art. Bereits ein leichter Druck auf das Deckglas sowie der nach längerer Beobachtungszeit im Präparat eintretende Luftmangel führen zu erheblichen Veränderungen der Struktur. Die Granastruktur wird dabei vergröbert und sehr unregelmäßig. Etwas später läßt sich dann eine fortschreitende Vacuolisation der Plastiden beobachten. Nach stärkerer Schädigung findet man gewöhnlich nur noch völlig desorganisierte Plastidentrümmer vor. Bei Plastiden junger Blätter ist diese Empfindlichkeit besonders ausgeprägt. Mit zunehmendem Alter scheint jedoch eine allmähliche Verfestigung der Plastiden einzutreten. In 5 bis 6 Wochen alten Pflanzen sind die Plastiden der Epidermiszellen kaum empfindlicher als die Plastiden der Mesophyllzellen.

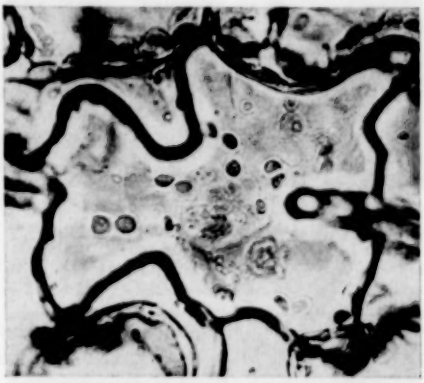

Abb. 1. Lebende Zelle aus der Blattepidermis von *Spinacia oleracea* L. mit deutlich erkennbaren Plastiden (Vergr. 720:1.).

Die Beobachtungen zeigten, daß bereits junge Blätter von etwa 2 Wochen alten Pflanzen in ihren Epidermen Plastiden enthalten, die sich in ihrer mikroskopischen Struktur nicht von den Plastiden in Epidermen älterer Blätter unterscheiden. Die Kultur der Pflanzen wurde bis zur Blüte und zum Fruchtansatz weitergeführt, ohne daß an den Plastiden irgendwelche Veränderungen erkennbar wurden. Auch zum Vergleich herangezogene Pflanzen anderer Sorten, die in Gartenbaubetrieben in der Umgebung von Münster kultiviert wurden, boten kein anderes Bild. Es kann somit festgestellt werden, daß die Zellen der Blattepidermis von *Spinacia oleracea* L. stets grüne, polygranuläre Plastiden enthalten. Im Vergleich zu den Plastiden der Mesophyllzellen ergeben sich jedoch erhebliche Unterschiede bezüglich der Größenverhältnisse. Diese sollen in der folgenden Tabelle 1 gegenübergestellt werden.

Tabelle 1. *Übersicht über die Messungen und Zählungen (Durchschnittswerte) an den Plastiden der Epidermis- und Mesophyllzellen von Spinacia oleracea* L.

	Länge	Breite	Granazahl Flächenansicht	Geldrollen	Granazahl pro Geldrolle	Färbung der Plastiden
Epidermis	3,2 μ	2,5 μ	16	5	3	blaßgrün
Mesophyll (Schwammparenchym)	8,2 μ	6,1 μ	67	14	8	intensiv grün

Die beschriebenen und in Tabelle 1 dargestellten Verhältnisse werden recht anschaulich durch die im gleichen Vergrößerungsmaßstab angefertigten mikrophotographischen Aufnahmen (Abb. 2 und 3) dargestellt.

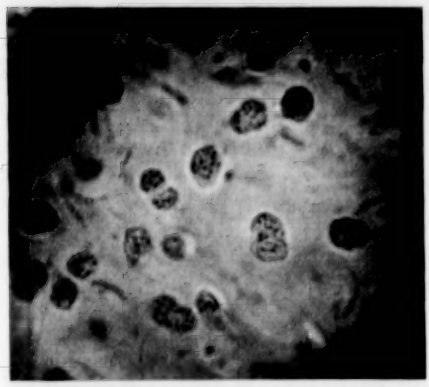

Abb. 2. Plastidengruppe aus einer lebenden Zelle der Blattepidermis von *Spinacia oleracea* L. Die Plastiden sind polygranulär. (Vergr. 2000:1.)

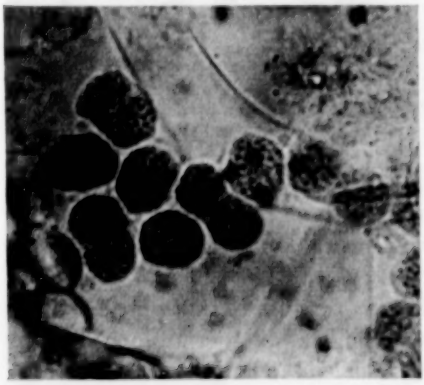

Abb. 3. Plastidengruppe aus einer lebenden Zelle des Mesophylls (Schwammparenchym) von *Spinacia oleracea* L. in gleicher Vergrößerung wie Abb. 2. Man erkennt deutlich die Größenunterschiede sowie die erheblich höhere Granazahl dieser Plastiden.

Die Gegenüberstellung zeigt deutlich, daß die Plastiden der Epidermiszellen gegenüber den Plastiden der Mesophyllzellen in ihrer Entwicklung stark gehemmt sind und bereits auf einem frühen Stadium ihre Entwicklung beenden. Die Plastiden sind ergrünt, polygranulär und haben eine feste Linsengestalt. Sie müssen daher mit STRUGGER (1954) als *Jungchloroplasten* bezeichnet werden.

Die bereits erwähnte Labilität der Chloroplasten der Spinatepidermen macht sich bei allen Versuchen mit fixiertem Material sehr stark bemerkbar. Es bereitet daher erhebliche Schwierigkeiten, Präparate mit brauchbar erhaltener Plastidenstruktur herzustellen. Bei Fixation mit Formalin oder Alkohol in verschiedenen Konzentrationen werden die Plastiden völlig deformiert, und nicht selten findet man in den Zellen nur noch mehr oder weniger entstellte Plastidentrümmer. Bedeutend günstiger ist die Fixation mit einer 2%igen wäßrigen Osmiumsäurelösung, besonders wenn durch Anwendung der Vakuum - Infiltrations - Methode (STRUGGER 1949) für ein rasches Eindringen des Fixationsmittels in das Gewebe gesorgt wird. Daneben bewährt sich ausgezeichnet die Fixation kleiner Blattstücke und Flächenschnitte mit Osmiumsäuredämpfen. Derartig behandelte Präparate zeigen gewöhnlich eine in jeder Hinsicht befriedigend fixierte Plastidenstruktur. Dabei muß allerdings der Nachteil der schlechten Färbbarkeit in Kauf genommen werden. Die von STRUGGER (1951) zur Verbesserung der Färbbarkeit osmium-

fixierter Plastiden beschriebene Quellungsbehandlung führt auch hier zum Ziel, muß jedoch stets mit größtem Feingefühl und möglichst unter mikroskopischer Kontrolle durchgeführt werden. Es erweist sich für die vorliegenden Aufgaben als zweckmäßig, die Konzentration der Kalilauge etwas geringer zu wählen; 0,1—0,2%ige Lösungen führten stets zu guten Erfolgen. Eine Überführung der gefärbten Präparate in Kanadabalsam gelang allerdings nicht, da die Plastiden in den höheren Alkoholstufen und im Xylol nicht genügend resistent waren. Stattdessen können die Präparate in Wasser mit geringem Formolzusatz für einige Zeit aufbewahrt werden.

Die Betrachtung der fixierten Präparate führte zu einer völligen Bestätigung der am lebenden Material gewonnenen Ergebnisse. Die Anwendung der Quellungsmethoden erlaubt darüberhinaus eine genaue Analyse der Plastiden in der Profilstellung. Durch die Quellung vergrößert sich der Abstand zwischen den einzelnen Grana innerhalb der Geldrollen, so daß ihre Zahl nunmehr mit Sicherheit ermittelt werden kann. Außerdem zeigt sich bei stärkerer Quellung, daß die Grana entsprechend den Feststellungen von Strugger (1951) untereinander durch parallel zur Chloroplastenoberfläche verlaufende Lamellen verbunden sind.

Vergleicht man die hier gegebene Beschreibung der Chloroplasten aus den Epidermiszellen von *Spinacia oleracea* mit den von Alscher und Lavin beschriebenen „Granula", so ergeben sich beträchtliche Differenzen. Diese liegen einerseits in der Größe der beschriebenen Gebilde, andererseits in deren morphologischer Struktur begründet. Darüberhinaus scheinen nach den von den Verfassern der Arbeit beigegebenen Abbildungen die Granula in der unmittelbaren Nähe der äußeren Zellmembran der Epidermis zu liegen, während die Chloroplasten fast ausschließlich an der an das Mesophyll angrenzenden Membran liegen. Irgendwelche den von Alscher und Lavin beschriebenen Granula entsprechende Gebilde konnten nicht gefunden werden. Andererseits geben die Beschreibungen mit Ausnahme der „gelegentlichen" Rotfluorescenz keinen Hinweis auf die Plastidennatur dieser Gebilde. Möglicherweise handelt es sich um Plastidenfragmente, die bei der Präparation entstanden sind, jedoch kann hierüber weder nach den Beschreibungen noch nach den Abbildungen eine sichere Aussage gemacht werden.

Zusammenfassung.

1. Lebende Epidermiszellen von *Spinacia oleracea* L. enthalten blaßgrüne, polygranuläre Plastiden.

2. Die Größe und die Granazahl dieser Plastiden lassen erkennen, daß dieselben gegenüber den Chloroplasten der Mesophyllzellen in

ihrer Entwicklung gehemmt sind und nicht über das Stadium der Jungchloroplasten (Strugger 1954) hinauskommen.

3. Die Herstellung fixierter Präparate ist möglich und wird beschrieben.

4. Die Identität der in den Epidermen aufgefundenen Jungchloroplasten mit den von Alscher und Lavin beschriebenen Granula läßt sich nicht nachweisen.

Literatur.

Alscher, R. P., and G. I. Lavin: Chloroplastic structures in the epidermis of spinach leaves. Bot. Gaz. **114**, 393—396 (1953). — Strugger, S.: Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie. Berlin 1949. — Die Strukturordnung im Chloroplasten. Ber. dtsch. bot. Ges. **64**, 69 (1951). — Die Proplastiden in den jungen Blättern von *Agapanthus umbellatus* L'Hérit. Protoplasma (Wien) **43**, 120—173 (1954).

Dr. Hans Kaja, Münster (Westf.), Botanisches Institut, Schloßgarten 3.

Planta, Bd. 44, S. 509—531 (1954).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Wien.

ÜBER DIE PHASEN DER ENDOMITOSE, HERKUNFT UND VERHALTEN DER „NUCLEALEN KÖRPER" UND BEOBACHTUNGEN ZUR KARYOLOGISCHEN ANATOMIE VON *SAUROMATUM GUTTATUM*.

Von

ELISABETH TSCHERMAK-WOESS.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Juli 1954.)

Seit GEITLER (1941, 1948, 1948/50) in offensichtlich endopolyploiden Kernen einiger Angiospermen einen wenig auffallenden, aber kennzeichnenden Strukturwechsel gefunden hatte, der sich als Ausdruck ablaufender Endomitosen deuten ließ, und TSCHERMAK-WOESS und HASITSCHKA (1953) diese Annahme gesichert hatten, indem sie eine regelmäßige Beziehung zwischen Strukturwechsel und rhythmischem Kernwachstum sowie einer relativ genau erfaßbaren Vermehrung bestimmter Strukturelemente („Körnchen" von *Sinapis*, v. l. c. S. 584) feststellten, lag es nahe, eine eingehendere Analyse des Ablaufes der Endomitose, wie sie für Angiospermen charakteristisch ist, durchzuführen.

Bisher war nur bekannt, daß in Kernen mit lockeren Chromocentren aus leicht heterochromatisch verklebten Chromonemen während der Endomitose ein auffallend gleichmäßiger „feinkörniger" Bau zutage tritt (GEITLER 1941, 1948, 1948/50 für *Trianea*, *Sauromatum*, *Hydrocharis*; TSCHERMAK-WOESS u. HASITSCHKA 1953 für *Urtica caudata* und *Stratiotes*) und auch in typischen Chromocentrenkernen durch Abbau der Matrix im Heterochromatin wohl als Chromomeren aufzufassende, isodiametrische „Körnchen" bloßgelegt werden (TSCHERMAK-WOESS u. HASITSCHKA 1953)[1]. Zwischen Anfangs- und Endstadien konnte dagegen zunächst nicht sicher unterschieden werden und über den Zeitpunkt der Verdoppelung der Chromomeren ließ sich auf Grund der Untersuchung von Kernen mit kompakten Chromocentren nur aussagen, daß sie wohl im maskierten Zustand erfolge (Näheres s. TSCHERMAK-WOESS u. HASITSCHKA, S. 586). Neuerdings erwähnt wohl DEUFEL (1954) in einer kurzen Mitteilung drei Phasen der Endomitose, doch sind eingehendere Belege abzuwarten, ehe eine Beziehung zu den bisherigen und den vorliegenden Befunden hergestellt werden kann.

Ob die erwähnten isodiametrischen „Körnchen" (und auch die „Ruhekernchromomeren" — s. unten), wie vorderhand angenommen,

[1] CARNIEL (1954) beobachtete analoge Veränderungen im Euchromatin.

tatsächlich den Pachytänchromomeren entsprechen, ist eine Frage, die gleichfalls noch genauerer Untersuchungen bedarf, wobei die Anzahl der „Körnchen" in genau definierten Chromocentren, wie etwa den Satelliten von Kernen in Endomitose mit der Zahl der Chromomeren des Pachytäns verglichen werden müßte. Dieses Ziel ließ sich zwar an dem zunächst vorgenommenen Objekt *Sauromatum guttatum* nicht erreichen, doch führte die Untersuchung zu brauchbaren Beobachtungen an den „nuclealen Körpern", die GEITLER (1938) und GRAFL (1940) seinerzeit für größere Kerne dieser Aracee beschrieben hatten.

Methodik. Zur Untersuchung gelangten in der Hauptsache Flächenschnitte der Innenepidermis der Spatha vom Hals und der angrenzenden Region des Oberteiles (vergleichsweise auch verschiedene andere Gewebe), fixiert und gefärbt in Alkohol-Eisessig (AE) bzw. Carminessigsäure (CE) und Pollenmutterzellen während der Meiose, wobei die frühen Stadien durch Fixierung halbierter Antheren in AE oder AE + CE und Herstellung von Quetschpräparaten in CE mit Spuren von Eisenalaun, ältere nach dem Ausstrichverfahren präpariert wurden. Für die Untersuchungen der Endomitose, wie der Meiose erwies sich eine nur 12—24 Std währende Fixierung am günstigsten; bei längerer Fixierungsdauer stellt sich allmählich eine Verklebung und Vergröberung der chromatischen Strukturen ein. Diese läßt sich bei der Spatha durch Aufbewahrung bei niedriger Temperatur (ungefähr 5° C) etwas, bei Pollenmutterzellen im Leptotän und Pachytän aber kaum verzögern.

Herkunft der „nuclealen Körper".

Wie GEITLER (1938) und GRAFL (1940) im wesentlichen schon beschrieben haben, zeigen die großen Ruhekerne aus der Innenepidermis der Spatha (und auch andrer Gewebe), die GRAFL (1939, 1940) als endopolyploid erkannte, folgenden Bau: An der Kernperipherie liegen 11 bis 16 untereinander in Verbindung stehende[1] Chromocentren, die einerseits die endomitotisch entstandenen Abkömmlinge eines Ausgangschromosoms enthalten, also *Endo*chromocentren darstellen (vgl. GEITLER 1953, S. 12), andrerseits Sammelbildungen umfassen. Sie setzen sich aus größeren, in mehreren Schichten und dichter liegenden, heterochromatischen Chromomeren im Zentrum und kleineren, lockerer verteilten euchromatischen an ihrer Peripherie zusammen; letztere bilden mehr oder minder deutliche Ausstrahlungen, die entlang der Kernmembran verlaufen und ins Kerninnere ragen, wo sie sich allmählich verlieren. Mitunter ziehen sich auch Stränge aus leicht verklebten Heterochromomeren quer durch den Kern. Eine ganz leichte Tendenz zur Verklebung im Heterochromatin scheint mir für die Interphase der Polyploidisierungsperiode überhaupt charakteristisch zu sein, während nach Abschluß der Endomitosetätigkeit die Kernstruktur oft besonders klar wird (über funktionsbedingte und temperaturabhängige Veränderungen vgl. GRAFL, 1940, bzw. weiter unten). Im übrigen enthält der Kern in der Regel einen

[1] Ihre Zahl läßt sich daher nicht genauer erfassen.

Nucleolus, dem in seichten Einbuchtungen gewöhnlich zwei kompakte, vacuolisierte oder undeutlich in Chromomeren gegliederte Chromocentren anliegen, und in dem Raum zwischen den peripheren Chromocentren und dem Nucleolus mehrere kugelige oder etwas unregelmäßig geformte, mitunter gleichfalls verklebte Chromomeren zeigende und oft eine Vacuole umschließende heterochromatische Körper (Abb. 4b, 5d, 7, 10)[1].

Das Verständnis des Baues der Ruhekerne ergibt sich aus der Analyse der mitotischen (GEITLER 1938) und der ersten meiotischen Prophase (GRAFL 1939, 1940). Dabei zeigt es sich, daß die Chromosomen heterochromatische Mittelteile und euchromatische Enden besitzen und daß der Trabant aus besonders dichtem Heterochromatin besteht. Darüber hinaus ließ sich nun durch die Pachytänanalyse auch die Herkunft der heterochromatischen Kugeln polyploider Kerne klären. In dieser Hinsicht besonders deutliche Bilder ergeben sich in einem Stadium, in dem die heterochromatischen proximalen Chromosomenabschnitte schon stark mit Chromatin beladen sind und keinen Chromomerenbau, jedoch die Spindelansatzstelle als weite anucleale Unterbrechung erkennen lassen. Die distalen euchromatischen Teile sind zu diesem Zeitpunkt nur sehr schwach färbbar, zeigen stellenweise deutlich blasse Chromomeren und an den Enden heterochromatische Knöpfe von verschiedener Größe; bei einzelnen Chromosomen sind auch in den euchromatischen Teilen kleine Heterochromomeren eingeschaltet; so ließ sich ein Chromosomenende mehrmals wiedererkennen, bei dem auf einen terminalen relativ großen Knopf in gewisser Distanz ein auffallendes Heterochromomer folgt; auch tragen manche Enden zwei kleinere Heterochromomeren hintereinander, einige winzig kleine und auch subterminale Knöpfe und rein euchromatische Endabschnitte kommen vor (Abb. 1 und 2). Insgesamt wurden bis zu 13 terminale und subterminale Knöpfe gezählt, wobei 2—4 sich vor den übrigen durch ihre Größe auszeichneten und auch Unterschiede in der Lichtbrechung bestanden. Da aber bestenfalls von den 26 Enden der Bivalenten nur 17 in einer Pollenmutterzelle beobachtet werden konnten, ist wohl anzunehmen, daß es noch mehr Knöpfe — zumindest der kleineren Kategorie — gibt. Erleichtert wird ihre Beobachtung übrigens durch das Vorherrschen einer wohl noch von der letzten prämeiotischen Mitose herrührenden Polfeldanordnung, wie sie die Abb. 1a, b und 2 belegen. Auch im ganz frühen Pachytän, wenn die proximalen Teile noch nicht mit Chromatin beladen sind, präsentieren sich die Chromosomenenden in prinzipiell gleicher Weise wie später. Zwar sind die terminalen Heterochromomeren kleiner und die Fibrillen mehr gestreckt, aber einzelne Knöpfe wie in älteren Stadien länglich und nicht

[1] Zwecks Vermeidung von Wiederholungen sei auf das Bildmaterial von GEITLER (1938) und GRAFL (1939, 1940) ausdrücklich verwiesen.

etwa in zwei Chromomeren zerlegt. Auch im weiteren Verlauf der Meiose, und zwar bis zur Diakinese, sind sie zu erkennen — am besten in der frühen Diakinese, solange die euchromatischen Enden noch nicht allzusehr verkürzt sind; doch läßt sich auch dann nicht eine genauere Bestimmung ihrer Zahl durchführen, sondern nur feststellen, daß manche

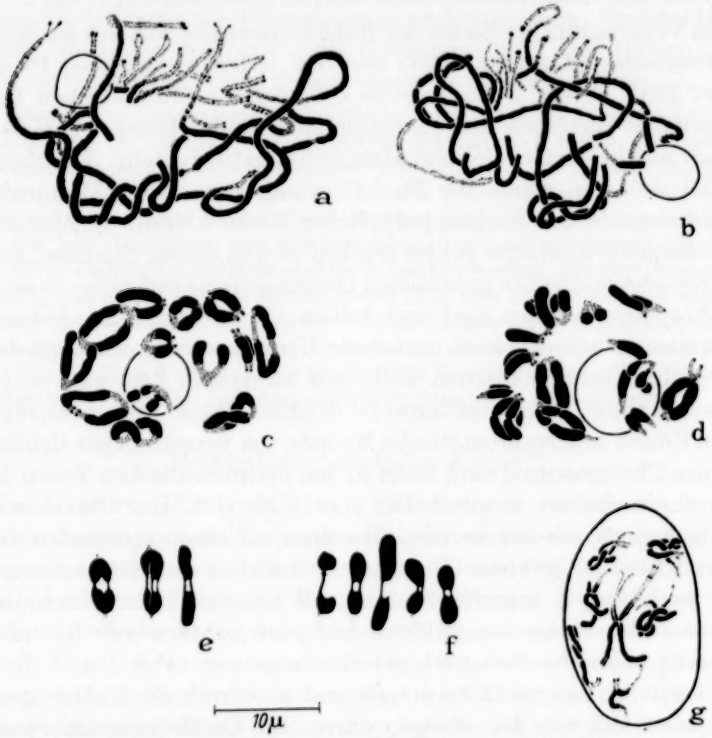

Abb. 1a – g. *Sauromatum guttatum*; a, b spätes Pachytän, c, d frühe Diakinese, e, f Bivalente der I. meiotischen Metaphase, g spontane tetraploide Prophase mit Diplochromosomen aus der Innenepidermis der Spatha (im einzelnen vgl. den Text).

Chromosomen an beiden Enden, andere — darunter das SAT-Chromosom — gar keinen Knopf tragen (Abb. 1 c, d). In den feinen Verbindungsfäden (vgl. weiter unten), die die Bivalente der ersten Metaphase zusammenhalten, ist nichts von knotigen Verdickungen zu sehen, nur in einem Fall fand sich eine solche unmittelbar anschließend an eines der Homologen (Abb 1 e, f). Wahrscheinlich handelt es sich dabei um eine Zufallsbildung. Dagegen kann man sie auch in mitotischen Prophasen erkennen, wie das Beispiel einer spontanen tetraploiden Prophase aus der Innenepidermis der Spatha zeigt (Abb. 1 g); in dieser lagen die proximalen Chromosomenteile in der Regel peripher, während die distalen zumeist ins Kerninnere ragten.

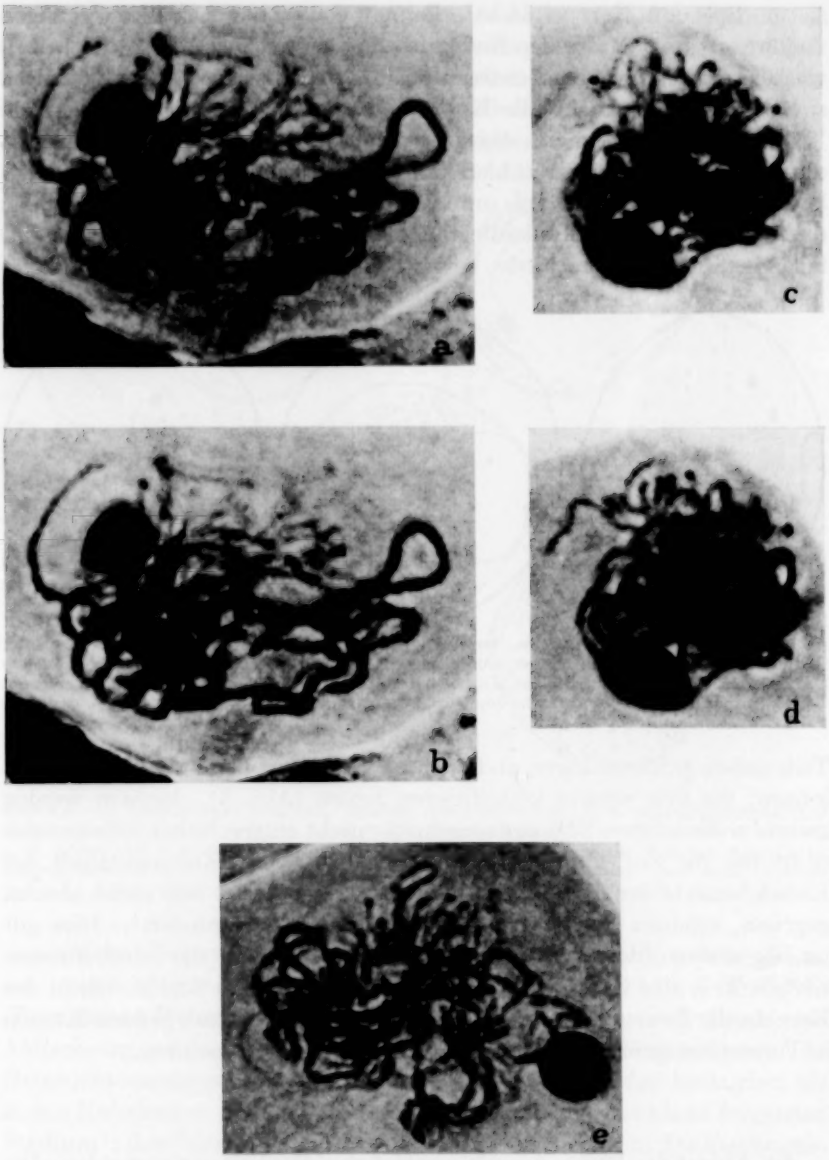

Abb. 2a—e. *Sauromatum guttatum;* spätes Pachytän; a, b bzw. c, d der gleiche Kern bei verschiedener Einstellung, a, b derselbe Kern wie in Abb. 1a; e derselbe wie in Abb. 1b gezeichnet. — Phot. 1640fach.

Die heterochromatischen Kugeln (= nucleale Körper GEITLERS, 1938) sind somit nichts anderes als die terminalen Knöpfe von Schwesterchromosomen, die in Endochromocentren vereinigt bleiben. Daß man

sie in diploiden Kernen nicht erkennen kann, liegt an ihrer geringen Größe; erst im Gefolge der Endomitosen werden sie in Form der heranwachsenden Endochromocentren deutlich sichtbar. Allerdings verhalten sich offensichtlich nicht alle Knöpfe einheitlich, sondern bildet nur ein Teil Endochromocentren. GEITLER (1938) gibt nämlich an, daß man oft 6—8 nucleale Körper zählen kann, und ich fand in Kernen der mittleren Polyploidiestufen (vgl. unten) 5—8 von annähernd gleicher Größe, dagegen bei hohem Polyploidiegrad 4—11, wobei bei höherer Zahl auffallende Größenunterschiede bestanden, kleine offenbar abgesprengte

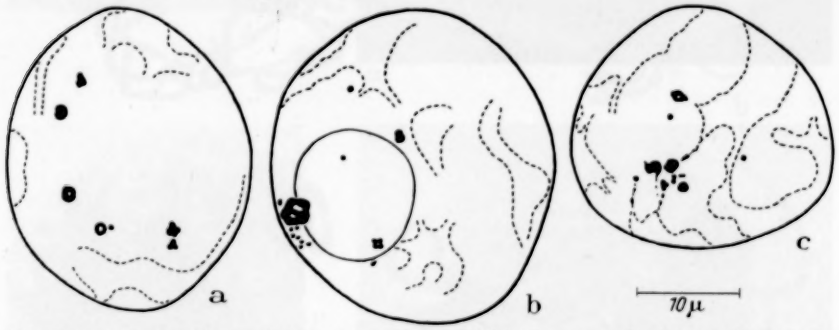

Abb. 3a–c. *Sauromatum guttatum*; vermutlich 64ploide Kerne aus der Innenepidermis der Spatha (periphere Chromocentren nur angedeutet, a, b optische Schnitte des gleichen Kernes) die „heterochromatischen Körper" und von ihnen abgesprengte Teilchen zeigend, bei b außerdem ein SAT-Chromocentrum.

Teile neben größeren lagen und auch kleine isoliert liegende Teilchen vorkamen, die sich schwer klassifizieren ließen (Abb. 3). Mitosen werden zwischen die letzten Endomitoseschritte nicht eingeschaltet, können also nicht für die Zerlegung verantwortlich sein. Der Zusammenhalt der Einzelelemente innerhalb der Endochromocentren ist also nicht absolut gegeben, sondern bei höherem Polyploidiegrad vermindert[1]. Dies gilt im allgemeinen nicht für die Endochromocentren, die die heterochromatischen Teile der SAT-Chromosomen umfassen; diese finden sich in der Regel in der Zweizahl und nur ausnahmsweise in hochpolyploiden Kernen in Form eines größeren plus zweier kleinerer Chromocentren.

Verlauf der Endomitose.

Im Ablauf der Endomitose lassen sich drei Stadien unterscheiden. Die deutlichsten Unterschiede gegenüber dem Ruhekern zeigt naturgemäß

[1] Ähnlich konnten wir im Verlauf einer Dissertationsarbeit am hiesigen Institut beobachten, wie sich bei *Gibbaeum Heathii* ohne Zwischenschaltung von Mitosen in Kernen höherer Polyploidiestufe die Endochromocentren in „Einzelchromocentren" zerlegen.

das mittlere (Abb. 4d, e und 7); es stellt den Höhepunkt der Endomitose dar und soll des besseren Verständnisses wegen als erstes beschrieben werden (zugrunde gelegt seien der folgenden Schilderung Endomitosen des 3. und 4. Cyclus — vgl. unten —, da diese sich an Kernen mittlerer Größe abspielen und infolgedessen der Analyse am besten zugänglich sind;

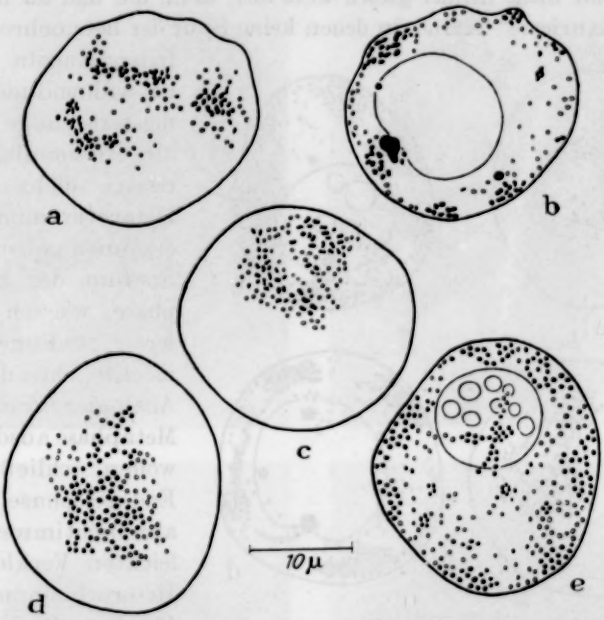

Abb. 4a–e. *Sauromatum guttatum*, Spatha Innenepidermis; a, b präendoprophasischer Ruhekern (höchstwahrscheinlich 16ploid) im Oberflächenbild und im optischen Schnitt, c–e Kerne des 4. Endomitosecyclus, c in Endoprophase (nur ein Teil der Oberfläche wiedergegeben), d, e Endometaphase („heterochromatische Körper" und SAT-Chromocentrum in Ansammlungen von Chromomeren zerlegt!).

wesentliche Unterschiede bestehen jedoch nicht zwischen den ersten, mittleren und letzten Endomitoseschritten). Es ist so wie in anderen Fällen (Tschermak-Woess u. Hasitschka 1953) gekennzeichnet durch eine Abflachung und Ausbreitung der peripher liegenden Chromocentren. Die Heterochromomeren in diesen sind kleiner und schärfer konturiert als in den Ruhekernen und etwas weiter auseinandergerückt als im folgenden Stadium[1]; ihre Form erscheint regelmäßig isodiametrisch. Die Euchromomeren treten deutlicher als im Ruhekern hervor. Auch in den freien

[1] Sie liegen aber während der mittleren und letzten Endomitoseschritte in mehreren Schichten, was die Auflösung und photographische Wiedergabe erschwert. — Auch sind die geschilderten Strukturen und Veränderungen nur bei eingehender Kenntnis des Objektes und auch dann zum Teil nicht leicht zu erkennen und zu klassifizieren.

kugeligen und den beiden dem Nucleolus anliegenden Endochromocentren tauchen unter Abbau der Matrix Heterochromomeren auf; allerdings spielen sich die Veränderungen an diesen oft mit einer leichten Phasenverschiebung ab, so daß der Höhepunkt der „Zerstäubung" in ihnen erst im folgenden Stadium erreicht wird. Auch schreitet diese anscheinend nicht immer gleich weit fort, denn hie und da findet man „feinstrukturierte" Kerne, in denen keine Spur der heterochromatischen freien Kugeln zu finden ist, während meistens wenigstens einige sich noch als Ansammlungen von relativ dicht liegenden Heterochromomeren zu erkennen geben. An das Stadium der Endometaphase, wie ich das mittlere Stadium nennen möchte, ohne damit etwa Analogien zur mitotischen Metaphase ausdrücken zu wollen, schließt sich die Endotelophase, die oft, aber nicht immer mit einer leichten Verklebung der Heterochromomeren vom Rande der Chromocentren her beginnt (Abb. 5a, b und 6d), unter Zusammenrücken der noch immer sehr feinen Heterochromomeren fortschreitet und mit der neuerlichen Beladung der kugeligen und der SAT-Chromocentren endet. Während die Kerne der Endometaphase, der Endotelophase und auch postendotelophasische Ruhekerne relativ *dicht* erfüllt sind von *kugel*förmigen Chromomeren, haben präendoprophasische Ruhekerne und besonders Kerne der Endoprophase einen auffallend *lockeren* Bau und enthalten sie größere *unregelmäßig* geformte Chromomeren in den peripheren Chromocentren (Abb. 4a—c). Die Abflachung der letzteren zeigt den Beginn der Endoprophase an; ihre Heterochromomeren erscheinen zunächst schollig, länglich, mitunter auch eckig, und der Kontrast zwischen ihnen und den Euchromomeren, denen man nichts Besonderes anmerken kann, ist stark ausgeprägt (Abb. 6a, b). Die größeren Ausmaße und die unregelmäßige Gestalt der Prophasechromomeren ist offenbar dadurch bedingt, daß sie zwei Tochter-

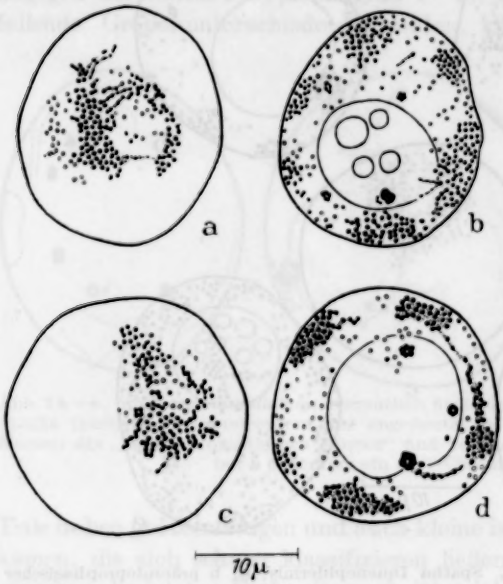

Abb. 5a—d. *Sauromatum guttatum*, Spatha Innenepidermis; a, b Endotelophase (Oberfläche und optischer Schnitt, 4. Cyclus), c, d postendotelophasischer Ruhekern (höchstwahrscheinlich 32ploid).

chromomeren enthalten, die zunächst noch von einer gemeinsamen Hülle umschlossen oder miteinander verklebt sind, aber bereits auseinander rücken und schließlich frei werden, sobald die Hülle abgeschmolzen ist.

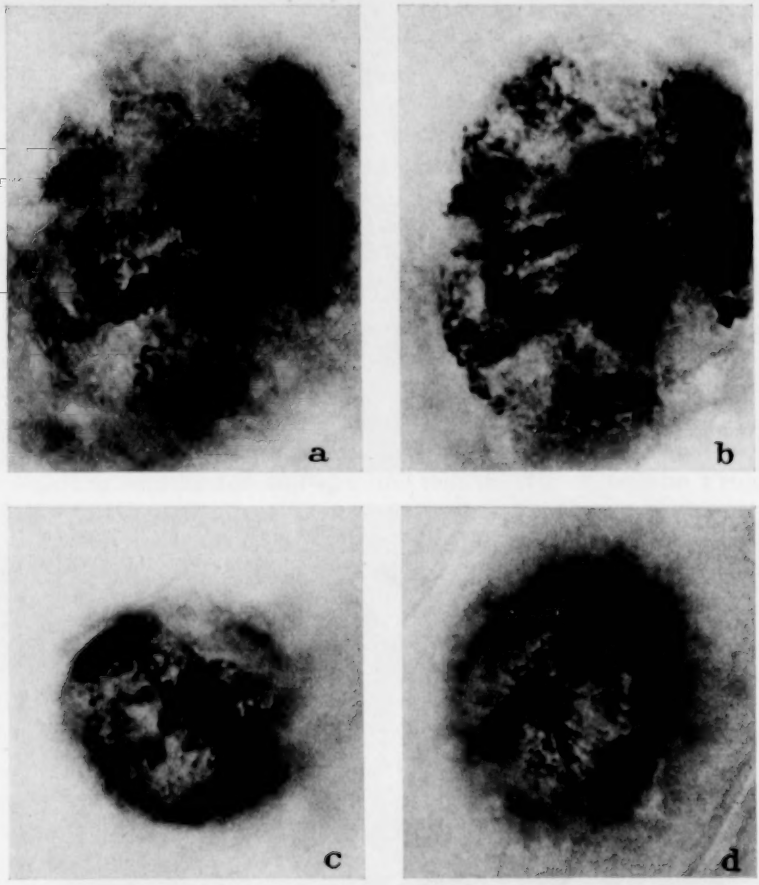

Abb. 6a–d. *Sauromatum guttatum*, Spatha Innenepidermis; a, b Kern in Endoprophase (Oberflächenbild und optischer Schnitt), c in Endometa-, d in Endotelophase (alle 4. Endomitosecyclus, der Kern der Fig. a, b ist sehr flach und infolgedessen nur scheinbar relativ groß!). — Phot. 1640fach.

Man kann nämlich an einzelnen optisch günstigen Stellen fortgeschrittener Endoprophasen mitunter auch hantelförmige Bildungen und zu je zweien dichter nebeneinander oder schräg übereinanderliegende kleinere Körnchen — wohl Teilungsprodukte — erkennen; sehr bald nach ihrem Freiwerden scheinen sie sich aber regelmäßiger zu verteilen, womit die bereits geschilderte Endometaphase eingeleitet wird. Die freien kugeligen

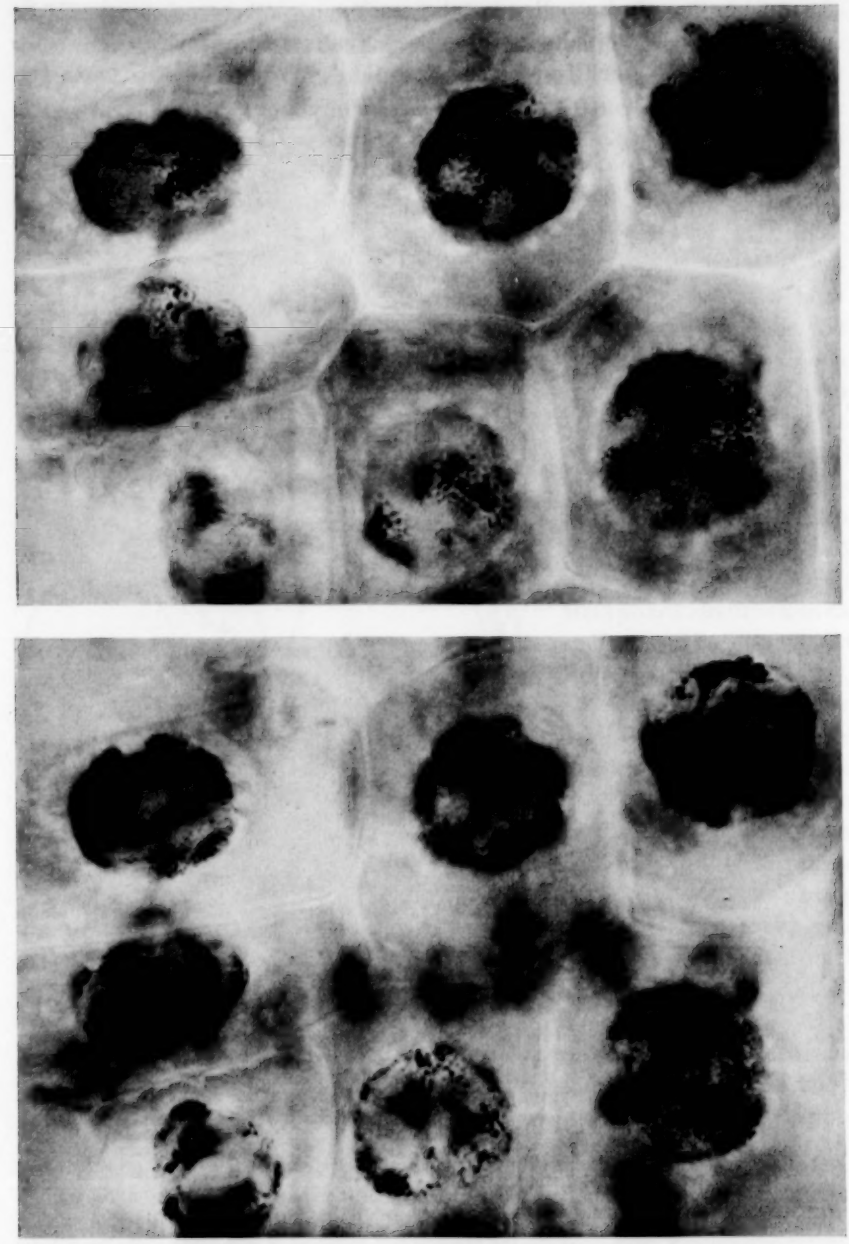

Abb. 7. *Sauromatum guttatum;* Übersichtsbild von der Innenepidermis der Spatha zur Zeit des 3. Endomitosecyclus mit 3 Kernen in Endomitose (und zwar linker und mittlerer der obersten Reihe, rechter der untersten). — Phot. 1125fach.

Endochromocentren und die SAT-Chromocentren behalten bis zu diesem Stadium ihre kompakte Beschaffenheit bei.

Untersuchungen zur karyologischen Anatomie.

Um über die Polyploidieverhältnisse in der Innenepidermis der Spatha Aufschluß zu erhalten, wurden karyometrische Untersuchungen durchgeführt. Da es darauf ankam festzustellen, ob rhythmisches Wachstum erfolge und wieviele Endomitosecyclen ablaufen, beschränkte ich mich darauf, das Volumen von Kernen in Endometa- bis früher Endotelophase zu bestimmen, und zwar wurden nicht die absoluten Werte, sondern das Produkt aus den drei Durchmessern solcher Kerne errechnet, deren Form einem Rotationsellipsoid entsprach[1]. Das Resultat ist ein mehrgipfeliges Säulendiagramm mit sechs stärker hervortretenden Maxima, wobei die den Maxima zugehörigen Werte ungefähr eine geometrische Reihe bilden (Abb. 8, vgl. auch Abb. 9). Im einzelnen ergeben sich aber nicht so scharf getrennte Kategorien und so regelmäßige Beziehungen wie bei unseren früheren Messungen an Endomitosekernen und Ruhekernen (Tschermak-Woess u. Hasitschka 1953, 1954), was wahrscheinlich auf einer stärkeren Inhomogenität des Materials beruht, die ihrerseits auf die Verwendung verschieden kräftiger und teils im Winter, teils im Frühjahr getriebener Individuen zurückzuführen ist. Dafür spricht auch, daß die Werte, die an *einem* Individuum gewonnen werden konnten, sich gewöhnlich sehr deutlich in zwei (bis drei) Kategorien gliedern. Man kann also wohl trotz der Überschneidung der einzelnen Volumenkategorien auf Grund der Messungen und im Zusammenhang mit unseren früheren Ergebnissen schließen, daß sechs Endomitosecyclen ablaufen. Dabei wird der letzte nur von einem Teil der Kerne mitgemacht und in den Nebenzellen und einzelnen weiteren Nachbarzellen der Stomata erfolgen noch weniger Endomitoseschritte, was anscheinend damit zusammenhängt, daß hier die mitotische Teilungstätigkeit am längsten und noch anhält, wenn in den übrigen Teilen der Epidermis die endomitotische Polyploidisierung (weiterhin als e. P. abgekürzt) beginnt. Die Mehrzahl der Epidermiskerne wird somit 64- und 128ploid, die Stomata bleiben offensichtlich stets diploid, und in bezug auf die Nebenzellen herrschen recht verschiedenartige Verhältnisse; so fanden sich beispielsweise in einem Fall zwei schätzungsweise oktoploide, in einem anderen mehrere, allem Anschein nach diploide, dann auf einer Seite einer Spaltöffnung eine vermutlich

[1] Der parallel zur Blickrichtung verlaufende Durchmesser wurde mittels der Skala an der Mikrometerschraube jeweils 3mal gemessen, wobei die 3 Werte in der Regel höchstens um 1 μ schwankten (andernfalls wurde öfter gemessen) und der Berechnung das Mittel, abgerundet auf $^1/_2$ μ zugrunde gelegt wurde.

oktoploide, auf der gegenüberliegenden drei diploide und neben kleineren, wohl später eingeschalteten Stomata[1] fehlen sie mitunter völlig und treten nur Papillen auf, die dem Kernvolumen nach 16- bzw. 32ploid sind (vgl. auch das Übersichtsbild der Abb. 10).

Der Beginn der e. P. fällt ungefähr mit dem Zeitpunkt der Meiose in den männlichen Blüten zusammen; die letzten Endomitosen laufen ab,

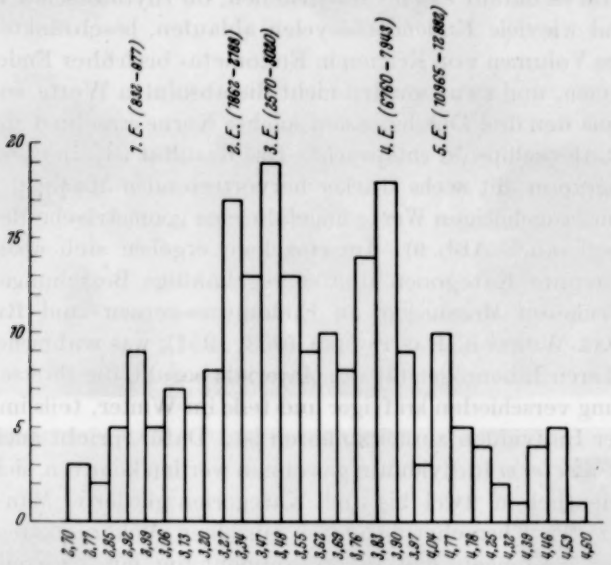

Abb. 8. *Sauromatum guttatum*; Volumina von Kernen in Endomitose aus der Innenepidermis der Spatha (Abszisse: Volumina logarithmisch, in Klassen von 0,7. Ordinate: Anzahl der Kerne; über den Maxima vermutliche Endomitosecyclen und in Klammer numerische Werte angegeben).

während sich die Epidermiszellen bereits als Papillen vorwölben. Im allgemeinen herrscht Synchronie, indem zu einem gegebenen Zeitpunkt — abgesehen von kleinen Inseln rund um die Stomata — nur Endomitosekerne von ein oder zwei Größenkategorien und nach stichprobenartigen Messungen — soviel man schätzen kann — Ruhekerne von zwei bis drei Größenkategorien anzutreffen sind. Hie und da schieben sich zwischen die ersten Endomitosecyclen noch Mitosen ein; besonders in den Nebenzellen der Stomata dürfte dies etwas häufiger der Fall sein, was man nachträglich aus der Ruhekernstruktur auf Grund der erhöhten Zahl der Chromocentren (z. B. 4 SAT-Chromocentren und mehr und kleinere periphere Chromocentren als üblich in einem dem Volumen nach vermutlich oktoploiden Kern) ablesen kann. Aber auch entfernt von Spalt-

[1] Noch während des 3. und 4. Endomitosecyclus treten in auffallend kleinen Zellen hie und da Mitosen auf, die zur Bildung von Stomata führen.

öffnungen liegende Zellen niedrigen Polyploidiegrades teilen sich ausnahmsweise noch mitotisch, wofür die tetraploide Prophase der Abb. 1g ein Beleg ist. — Übrigens wird, wie allerdings nur gelegentliche Beobachtungen ergeben, auch die Subepidermis zum Teil endopolyploid; und zwar schätzungsweise in einzelnen Zellen bis oktoploid; jedenfalls treten in ihr spontane tetraploide Mitosen mit Diplochromosomen in Prophasen auf (in der Hauptsache wächst sie jedoch durch Teilungswachstum). Und schließlich laufen in der unteren Epidermis der Hüllblätter des Blütenstandes bis zu zwei Endomitosecyclen ab. Die Messungsergebnisse an diesen gliedern sich denen aus der Spatha gut ein (Diagramm der Abb. 9) und die Maxima des Diagramms der Endomitosekerne schieben sich in der gewohnten Weise (vgl. TSCHERMAK-WOESS u. HASITSCHKA 1953) zwischen die Maxima der hier gleichfalls gemessenen diploiden und tetraploiden Ruhekerne. (Das Volumen der in relativ geringer Zahl vorhandenen offensichtlich oktoploiden Ruhekerne konnte ihrer unregelmäßigen Gestalt wegen nicht bestimmt werden, weshalb von einer eingehenderen Darstellung und graphischen Wiedergabe abgesehen wird.) An den Kernen der Hüllblätter zeigen sich auffallende Unterschiede, wie sie ähnlich aber weniger ausgeprägt, für die Innenepidermis der Spatha gelten dürften: die Endomitosekerne haben nämlich gewöhnlich sehr regelmäßige Umrisse, die Ruhekerne sind dagegen häufig eingebuchtet, in Zipfel ausgezogen oder anderweitig deformiert. Man kann daraus wohl schließen, daß die Endomitose von Viscositätsänderungen begleitet ist.

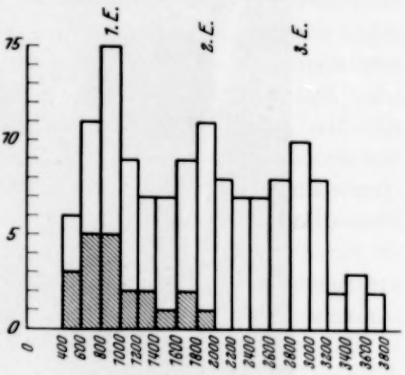

Abb. 9. *Sauromatum guttatum*; Volumina von Kernen in Endomitose aus der Innenepidermis der Spatha während ihrer frühen Entwicklung und aus der Außenepidermis eines Hüllblattes (letztere schraffiert). Volumina numerisch auf der Abszisse, Anzahl der Kerne auf der Ordinate.

Weiters dürfte von Zellen, die in Endomitose eintreten, eine gewisse Induktionswirkung auf benachbarte und nahe gelegene Zellen ausgehen; denn häufig findet man in der Innenepidermis der Spatha Nester von Endomitosen, und auch ein Ausstrahlen auf die Subepidermis läßt sich erkennen. Auffallend hoch ist übrigens auch der Prozentsatz der endomitotisch aktiven Zellen. Unter Berücksichtigung der Endometaphase und der frühen Endotelophase (die oft schwer nach unten und oben abzugrenzenden früheren und späteren Stadien wurden nicht mitgezählt) beträgt er 12—13% (bei Warmhausbedingungen mit Temperaturen zwischen 16 und 20° C im Frühjahr). Auch bemerkt man, daß zu Beginn

der e. P. relativ mehr präprophasische, gegen Ende mehr posttelophasische Ruhekerne anzutreffen sind. — Schließlich zeigten Pflanzen, die trotz Aufbewahrung im Keller Ende Mai bei Temperaturen von durchschnittlich 10° zu treiben begannen, folgendes Verhalten. Die Ruhekerne erscheinen chromatinärmer als normalerweise und die Chromomeren in

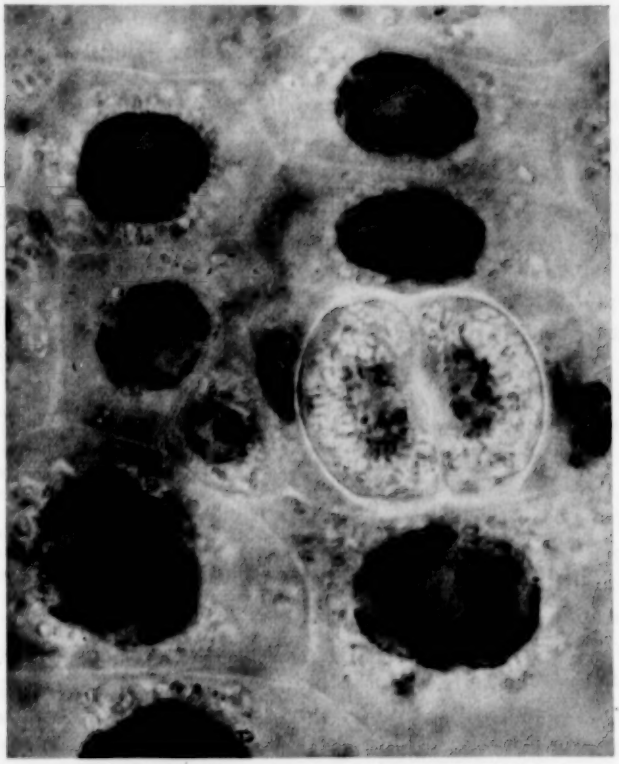

Abb. 10. *Sauromatum guttatum;* Übersichtsbild von der Innenepidermis der Spatha zur Zeit des 3. Endomitosecyclus mit diploiden Spaltöffnungszellen und Nebenzellen und bis zu 16ploiden Zellen in deren Umgebung. – Phot. 1125fach.

ihnen sind stärker verklebt; während des Höhepunktes der Endomitose treten sie jedoch besonders deutlich und völlig isoliert hervor, was sich vor allem bei den SAT-Chromocentren und heterochromatischen Kugeln stark auswirkt. Ihr Durchmesser dürfte gegenüber dem Normalzustand etwas vermindert sein. Die Chromosomen, die in Mitosen der Spaltöffnungsmutterzellen, der Nebenzellen und in der Subepidermis sichtbar sind, weisen dagegen keine Veränderungen auf.

Wie zu erwarten, spricht das Mesophyll der Spatha und der Hüllblätter auf Wundreiz mit zum Teil polyploiden Mitosen (die nicht näher untersucht wurden) an, während die Epidermis, so wie bei den meisten anderen Pflanzen und Organen, nicht reagiert.

Einzelbeobachtungen.

Abschließend mögen noch einige Versuche und gelegentliche Untersuchungen erwähnt werden, die zum Teil aus im Objekt liegenden Gründen nicht so weit vorgetrieben werden konnten wie erwünscht, zum Teil mit dem eigentlichen Gegenstand der vorliegenden Veröffentlichung nicht in unmittelbarem Zusammenhang stehen, jedoch von gewissem allgemeinem Interesse sein dürften. — Wie eingangs erwähnt, kann man zwar mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit annehmen, daß die Chromatinkörnchen, die zunächst provisorisch als Chromomeren bezeichnet wurden und die bei manchen Objekten bereits in den Ruhekernen sichtbar sind und bei diesen und anderen Arten mit kompakten Chromocentren während des Zerstäubungsstadiums der mitotischen Prophase und während der Endomitose ganz besonders deutlich hervortreten, mit den Pachytänchromomeren identisch sind. Gewißheit ließe sich jedoch nur gewinnen, wenn eine genaue zahlenmäßige Übereinstimmung und gesetzmäßige Vermehrung im Zusammenhang mit der Endomitose festgestellt werden könnte. Für diesen Zweck erschien *Sauromatum* zunächst als geeignetes Objekt, da nach Grafl (1939, 1940) die SAT-Chromosomen im Pachytän sechs Heterochromomeren enthalten und die heterochromatischen Kugeln auf Chromosomenabschnitte zurückgehen, die sich im Pachytän zumeist aus einem Chromomer zusammensetzen. Demnach müßten die beiden dem Nucleolus anliegenden Chromocentren — die nach den Befunden von Grafl (1940) in den polyploiden Kernen sowohl die Satelliten wie die proximalen heterochromatischen Teile der SAT-Chromosomen umfassen — während der ersten Endomitose 12, in den folgenden entsprechend vermehrte Zahlen von Chromomeren zeigen. Ähnlich müßten in bestimmten heterochromatischen Kugeln im Verlauf der aufeinanderfolgenden Endomitosen 2, 4, 8, 16 usw. Chromomeren bloßgelegt werden. Während der allgemeine Eindruck völlig diesen Erwartungen entspricht, nämlich mit den Endomitosen offensichtlich eine Vermehrung in den erwähnten Chromocentren einhergeht, stößt die genaue Zahlenbestimmung selbst während der ersten drei Endomitosecyclen auf unüberwindliche Schwierigkeiten. Auch die Zählung der in einer Ebene liegenden Chromomeren und möglichst genaue Schätzung der übrigen führt bei den heterochromatischen Kugeln mit ihren offensichtlich und erwartungsgemäß niedrigeren Zahlen von Chromomeren nicht zu klaren Resultaten. Der Hauptgrund hierfür dürfte in ihrer dichten Lage und geringen Größe liegen, doch könnten vielleicht, so wie es sich für höher polyploide Ruhekerne feststellen ließ, mitunter einzelne kleinste Teilchen abgesprengt werden, ohne als solche erkennbar zu sein. — Besonderes Augenmerk wurde auch auf die Kerne des 5. und 6. Endomitosecyclus gerichtet, doch fanden sich in ihnen an Stelle der heterochromatischen Körper nie Ansammlungen von 32 oder 64 Chromomeren,

sondern bestenfalls schätzungsweise 16; dies steht mit den eben erwähnten und oben eingehender behandelten Beobachtungen über die Zerlegung dieser Chromocentren in Einklang.

Weiters wurde auch versucht, durch experimentelle Einwirkung eine weitgehende Bloßlegung der Chromomeren von Ruhekernen herbeizuführen, um vielleicht an diesen die Zahl genauer bestimmen zu können. Dies war vor allem auf Grund der Ergebnisse von Oura (in Kuwada, Shinke u. Oura) zu hoffen, wonach sich in Ruhekernen der Blattepidermis von *Spiranthes australis* durch Einwirkung von KCN, NH_4Cl oder NH_4OH die Matrix der Chromocentren ablösen läßt und Strukturen auftreten, die der endomitotischen Struktur weitgehend gleichen, wie wir sie etwa bei *Sinapis*, *Cucurbita* und anderen Arten beobachteten (Tschermak-Woess u. Hasitschka 1953). Die Effekte, die sich bei *Sauromatum* in der Spatha-, Appendix- und Hüllblattepidermis bei Behandlung mit NH_4Cl und KCN in wäßriger Lösung (bei Variierung der Behandlungszeit von 2—30 Minuten und der Konzentration von 1/2 bis 1/128 Mol) zeigen, lassen sich kurz folgendermaßen charakterisieren. Innerhalb eines engen Konzentrationsbereiches (für alle untersuchten Gewebe liegt er bei 1/2 Mol NH_4Cl, für Hüllblatt- und Spathaepidermis bei 1/18 bis 1/20 Mol KCN, für die Appendixepidermis bei 1/32 Mol KCN) tritt bei kurzer Einwirkungsdauer vorwiegend am dünneren Rand der Schnitte, bei längerer auch an dickeren Stellen weiter innen in einem Teil der Kerne eine „Zerstäubung" und Homogenisierung auf; d. h. der ganze Kern ist gleichmäßig erfüllt von feinsten Chromatinkörnchen (ob es sich um Körnchen handelt, wie ich in Analogie zum Bau unbehandelter Kerne meinen möchte, oder um Querschnitte sehr dünner Fäden, wie die japanischen Autoren für ihre Objekte annehmen, läßt sich nicht sicher entscheiden); nur in wenigen Kernen sind die ehemaligen heterochromatischen Kugeln noch an Resten stärker färbbarer und etwas größerer Körnchen zu erkennen, und am längsten dauert es anscheinend, bis auch die SAT-Chromocentren abgebaut und dem übrigen Chromatin angeglichen werden. In manchen Kernen geht auch die Homogenisierung so weit, daß keine Struktur mehr zu sehen ist, während sie in anderen gegenüber den Kontrollen nur stark vergröbert erscheint. Es handelt sich jedenfalls um subletale bis letale Veränderungen, denn beim Einlegen der Schnitte in Lösungen wirksamer Konzentration tritt aus den Anthocyan führenden Zellen dieses aus, wird das Plasma vacuolig-schaumig, die Zellsaftvacuole zerstückelt und die Kernform sehr unregelmäßig lappig-buchtig. Für die Zahlenbestimmung der Strukturelemente erweisen sich diese Veränderungen als äußerst ungünstig, weshalb die Versuche schließlich abgebrochen wurden.

Schließlich wäre noch in bezug auf die Bivalenten der ersten meiotischen Metaphase folgendes zu sagen. Diese zeigen vielfach Doppel-

bindungen, d. h. die Homologen sind im Fall von Stabbivalenten an einem Ende, im Fall von Ringbivalenten an beiden durch je zwei feine mit Carminessigsäure färbbare Fäden verbunden (Abb. 1e, f). Sie stellen offenbar den Zusammenhang zwischen den Chromatiden her und sind besonders klar zu erkennen, wenn diese nebeneinanderliegen — also an Ringbivalenten bei Seitenansicht — lassen sich mitunter aber auch in Deckung beobachten. Das gleiche gibt DARLINGTON (1931) für *Oenothera* und eine Reihe weiterer pflanzlicher und tierischer Objekte wieder (vgl. etwa 1937). Er sieht hierin einen Beweis für die jetzt wohl kaum mehr angezweifelte Parasynapsis und faßt die Fäden als persistierende, stark gedehnte Endchiasmen auf. Auch OEHLKERS (1935) ist der Meinung, daß im allgemeinen Doppelbindungen bestehen, aber nur „mit Mühe und Not" festgestellt werden können, die diesbezüglichen Abbildungen DARLINGTONs sind seiner Meinung nach zu schematisch gehalten. Schließlich beschreibt auch STRAUB (1936) für die Diakinese kältebehandelter *Rhoeo discolor* deutliche Doppelbindungen. Da es den Rahmen der vorliegenden Veröffentlichung sprengen würde, auf die Probleme, die sich an diese Erscheinung knüpfen, weiter einzugehen, möge nur hervorgehoben werden, daß sie bei *Sauromatum* jedenfalls relativ leicht und deutlich zu erkennen ist.

Besprechung der Ergebnisse.

Im Zusammenhang mit der Feststellung von drei kennzeichnenden Phasen der Endomitose wurde geschildert, wie sich postendotelophasische und präendoprophasische Ruhekerne unterscheiden. Danach läßt sich für das Verhalten der Interphasekerne während der Periode der e. P. folgendes Bild skizzieren: in postendomitotischen Ruhekernen liegen die Chromocentren relativ dicht und enthalten dicht gedrängt kleine kugelige Chromomeren; während der folgenden Wachstumsperiode nimmt das Kernvolumen zu und rücken die Chromocentren und deren Bauelemente auseinander; letztere wachsen heran und nehmen unregelmäßige, schollige Formen an, wodurch sie offenbar teilungsbereit werden. Auf diese Weise wird der präendoprophasische Zustand erreicht.

Damit sind erstmalig morphologische Anzeichen für eine Chromatin- bzw. Desoxypentosenucleinsäure(DNS)-zunahme während der Interphase aufgefunden. Dies gilt zunächst für die *endomitotische* Interphase; es ist aber bei der Übereinstimmung der Endomitose mit frühen Mitosestadien sowie auf Grund des „Vikariierens" dieser beiden Teilungstypen in manchen Fällen (vgl. GEITLER 1953, S. 71—73) wohl anzunehmen, daß auch die Vorgänge, die beiden vorangehen, gleich verlaufen. (Im Fall der endomitotischen Interphase liegen die Verhältnisse wahrscheinlich bei vielen Objekten nur insofern günstiger, als größere, der Strukturbeobachtung daher leichter zugängliche Kerne analysiert werden können.)

Daß die Vermehrung der Chromosomensubstanz während der mitotischen Interphase erfolgen muß, geht aus einer Reihe von Veröffentlichungen hervor, in denen auf verschiedenem Wege eine Verdoppelung des DNS-Gehaltes zwischen Telo- und Prophase nachgewiesen wird (SWIFT 1950b, PELC u. HOWARD 1952, DUNCAN u. WOODS 1953, GRUNDMANN u. MARQUARDT 1953, PATAU u. SWIFT 1953, TAYLOR 1953 u. a.). Andrerseits ergibt der Vergleich zwischen Ruhekernen aufeinanderfolgender Polyploidiestufen, die durch e. P. zustande gekommen sind, gleichfalls eine Verdoppelungsreihe der DNS (RIS u. MIRSKY 1949, SWIFT 1950a, b, ALFERT u. SWIFT 1953).

Nach alldem kann man wohl annehmen, daß die hier geschilderten Strukturveränderungen während der endomitotischen Interphase den morphologischen Ausdruck der DNS-Zunahme darstellen, und man wird nicht fehlgehen, an geeigneten Objekten nach analogen morphologischen Anzeichen der DNS-Vermehrung in *mitotischen* Interphasekernen zu suchen[1]. — Die Endomitose selbst stellt nach diesen Vorstellungen ebenso wie die Mitose nur einen Verteilungsmechanismus dar: durch vorübergehende Abschmelzung oder vielleicht nur Umlagerung (vom Heterochromatin auf das dann etwas stärker hervortretende Euchromatin) oder Zustandsänderung (etwa hinsichtlich der Polymerisation) der Matrix im Heterochromatin wird die Zerlegung der Chromomeren in zwei Tochterchromomeren möglich. Darüber, wann sich die Zerlegung im Euchromatin abspielt, kann vorderhand nichts Sicheres ausgesagt werden. Da aber anscheinend eine gleitende Reihe im Verhalten während der Endomitose und unter dem Einfluß von Chemikalien zwischen Euchromatin, leicht heterochromatischem Chromatin der peripheren Chromocentren, Heterochromatin der Kugeln und der SAT-Chromocentren besteht, wobei die endomitotischen und durch Chemikalien bedingten Veränderungen an letzteren „verspätet" eintreten, werden sie sich im Euchromatin höchstwahrscheinlich besonders früh vollziehen.

[1] Bei den feinen und grobstrukturierten Kernen, die KUWADA, SINKE u. NAKAZAWA für Staubfadenhaare von *Tradescantia* beschreiben, dürfte es sich nach unseren Erfahrungen (die an den ähnlich gebauten Kernen des Wurzelmeristems von *Rhoeo* gewonnen wurden — DOLEŽAL u. TSCHERMAK-WOESS) einerseits um *echte* Interphasekerne (feine Struktur) andererseits um Kerne der frühesten mitotischen Prophase handeln, in der die euchromatische Struktur zunächst deutlicher und etwas vergröbert hervortritt; die Autoren geben auch an, daß auf das grobstrukturierte Stadium sehr bald (nach 14 bzw. 11 min) das Spiralstadium folgt. Die von ihnen geschilderten Strukturunterschiede stellen also wohl nicht Veränderungen während der Interphase dar und werden auch nicht in diesem Sinne, sondern als Änderungen des Hydratationszustandes während der frühen Prophase gedeutet.

Die Hypothese von GRUNDMANN und MARQUARDT, wonach Differenzierungsleistung und DNS-Synthese sich gegenseitig ausschließen sollen, trifft für die DNS-Synthese während der e. P. nach allen bisherigen Erfahrungen wohl nicht zu. Denn diese setzt in den verschiedensten Organen gerade nach Abschluß des Teilungswachstums und mit dem Beginn der Differenzierung ein. Das ergibt sich indirekt aus den Untersuchungen von HUSKINS u. STEINITZ, D'AMATO, HOLZER sowie TSCHERMAK-WOESS u. DOLEŽAL für die Wurzel (neuerdings auch direkt durch die Beobachtung von Endomitosen in der Streckungszone von *Rhoeo discolor* — DOLEŽAL u. TSCHERMAK-WOESS, im Druck), weiters aus Beobachtungen an der Achse (FENZL u. TSCHERMAK-WOESS) und durch die Feststellung von Endomitosen bzw. des Ablaufes der e. P. in Trichomen, die bereits mannigfache Differenzierungsleistungen vollbringen (TSHERMAK-WOESS u. HASITSCHKA 1953, 1954), also etwa im Fall der Brennhaare von *Urtica* sich bereits in Basalteil und endständiges Köpfchen gegliedert haben oder die, wie beispielsweise die spießförmigen Trichome von *Sinapis*, eine dicke warzige Membran besitzen. Das gleiche gilt für die Innenepidermis der Spatha von *Sauromatum*, bei der der größte Teil der Differenzierungsperiode von einer *intensiven* Endomitosetätigkeit und damit DNS-Synthese begleitet ist (letzte Endomitosen, wie erwähnt, wenn die Epidermispapillen vorgewölbt sind und schätzungsweise $^1/_2$—$^1/_3$ ihrer endgültigen Länge erreicht haben). Es hat vielmehr den Anschein, als ob die Chromatinvermehrung im Anschluß an das meristematische Wachstum noch fortgesetzt werden könnte und in ihrem Gefolge *parallel* mit der Differenzierung *nur noch Endomitosen aber keine Mitosen mehr ablaufen könnten*. Wenn man, wie es den Anschein hat, zumindest unter bestimmten Voraussetzungen von der Zunahme des Kernvolumens auf eine DNS-Zunahme schließen darf, so erfolgt diese während der e. P. diskontinuierlich. Dies scheint aber eher eine Folge der Konstitution des Chromosomenmaterials zu sein, das eben nur sprunghaft, im Verhältnis 1:2:4:8 usw. vermehrt werden kann, und nicht eine Folge davon, daß sozusagen Mikrodifferenzierungsphasen ohne Kernwachstum und Chromatinvermehrung mit Mikrowachstumsphasen abwechseln, wie man nach der Hypothese von GRUNDMANN u. MARQUARDT annehmen müßte.

Da bis jetzt für 14 Angiospermen von ganz verschiedener systematischer Zugehörigkeit und in verschiedenen Geweben[1] ein prinzipiell gleichartiger Verlauf der Endomitose festgestellt worden ist (GEITLER

[1] Über die fälschlich als Endomitosen gedeuteten gehemmten Mitosen im mehrkernigen Tapetum vieler Angiospermen vgl. zuletzt CARNIEL (1952), MECHELKE (1953) u. GEITLER (1953).

1941, 1948, 1948/50[1], TSCHERMAK-WOESS u. HASITSCHKA 1953, 1954, CARNIEL 1954, DOLEŽAL u. TSCHERMAK-WOESS, im Druck, dazu noch *Gibbaeum Heathii*, das derzeit am hiesigen Institut bearbeitet wird, und die vorderhand nicht näher bezeichneten Objekte von DEUFEL), kann man ihn wohl als *den Typus* der Endomitose höherer Pflanzen ansehen und auch bei anderen Arten erwarten, eine analoge Phasenfolge wie bei *Sauromatum* zu finden. Ob sich dabei die hier angewendete Gliederung und Terminologie als nützlich erweisen wird oder ob man nach dem Beispiel von DEUFEL (soviel man seiner knappen, vorläufigen Mitteilung entnehmen kann) erst die Rekonstruktionsphase als Endometaphase auffassen soll, ist eine Frage von untergeordneter Bedeutung.

Daß die Volumina der Kerne in Endomitose sich im vorliegenden Fall nicht in scharf getrennte Kategorien gliedern und die Maxima zum Teil nicht ganz die erwartete Lage aufweisen, ist wie erwähnt auf eine — leider unvermeidliche — Inhomogenität des Pflanzenmaterials zurückzuführen. Wie sehr individuelle Unterschiede sich auf das Kernvolumen auswirken, zeigen Beobachtungen an Wurzeln von *Trianea* (TSCHERMAK-WOESS u. HASITSCHKA 1953), wonach die Größe der Kerne parallel mit dem Durchmesser der Wurzeln sehr beträchtlich variiert und selbst bei möglichst gleichem Wurzelmaterial von Wurzel zu Wurzel deutliche Unterschiede bestehen (vgl. die 5 Diagramme l. c. S. 596, 597). Bei *Elodea* und *Potamogeton*, bei denen diese Unterschiede einer statistischen Prüfung unterzogen wurden, erwiesen sie sich als sehr signifikant (TSCHERMAK-WOESS u. HASITSCHKA 1954). Wenn aus den angeführten Gründen auch eine statistische Sicherung der Werte unterlassen wurde, so sind die vorgelegten Befunde an *Sauromatum* im Zusammenhang mit unseren früheren Ergebnissen wohl doch im Sinne einer Korrelation zwischen rhythmischer Volumenzunahme und endomitotischem Strukturwechsel aufzufassen.

Zusammenfassung.

Den beiden hinsichtlich Herkunft und Verhalten bekannten Sorten von Heterochromatin im Ruhekern von *Sauromatum guttatum* (1. lockeres, in nicht oder nur leicht verklebte Chromomeren gegliedertes der peripheren Chromocentren, aus den proximalen Chromosomenteilen, 2. dichteres, in der Innenepidermis der Spatha nur undeutlichen Chromomerenbau zeigendes der SAT-Chromocentren) reiht sich eine 3. Sorte: das in der Regel kompakte Heterochromatin der kugelförmigen oder etwas

[1] Bei den Strukturen, die GEITLER (1941, S. 27—29) für die endopolyploiden Kerne des Suspensorhaustoriums von *Lupinus* wiedergibt, handelt es sich um Ruhekernendochromocentren mit peripheren Ausstrahlungen, wie sie bei hohem Polyploidiegrad in ähnlicher Weise auch bei anderen Arten anzutreffen sind, und nicht um endoprophasische Strukturen, wie VIRKKI meint.

unregelmäßigen Körper im Kerninneren an. Es stammt von terminalen, an euchromatischen Chromosomenabschnitten sitzenden Heterochromomeren, wie die Pachytänanalyse ergibt, und ist auch in der mitotischen Prophase zu erkennen. Infolge seiner geringen Dimensionen wird es erst mit der endomitotischen Polyploidisierung in Form von 5—8 Endochromocentren bei mittlerem Polyploidiegrad sichtbar. In hoch polyploiden Kernen erfährt es meist eine Zerlegung in einige kleinere Teile (4—11 Chromocentren bzw. Endochromocentren).

Im Verlauf der Endomitose lassen sich ein frühes (Endopro-), mittleres (Endometa-) und spätes (Endotelophase) Stadium unterscheiden. Das frühe ist gekennzeichnet durch: Abflachung der peripheren Chromocentren und unregelmäßig längliche, mitunter hantelförmige, stellenweise bereits zweigeteilte Chromomeren in diesen; das mittlere durch gleichmäßigere Verteilung vermehrter, scharf begrenzter, kugeliger Chromomeren an der Peripherie und Zerlegung der SAT- und kugeligen Chromocentren in Chromomeren unter fortschreitendem Abbau der Matrix; im späten setzen rückläufige Veränderungen ein; es unterscheidet sich durch die erhöhte Zahl, dichte Lage und kugelige Form der wesentlich kleineren Chromomeren in den peripheren Endochromocentren deutlich vom frühen.

An den Kernen der endomitotischen Interphase kann man den Übergang vom postendotelophasischen zum präendoprophasischen Zustand an der lockerer werdenden Verteilung und Vergröberung der Struktur erkennen; es ließen sich somit erstmalig morphologische Veränderungen als Anzeichen einer DNS-Zunahme während der Interphase feststellen.

Die Volumina von Endomitosekernen aus der Innenepidermis der Spatha (210 Kerne gemessen) und aus der Außenepidermis des Hüllblattes (21 Kerne) gruppieren sich um 6 bzw. 2 Maxima, woraus auf den Ablauf von 6 bzw. 2 aufeinanderfolgenden endomitotischen Teilungen geschlossen werden kann.

Die Epidermispapillen und -zellen der Spatha werden somit maximal 128-, daneben 64- und 32ploid und rund um die diploiden Stomata niedriger polyploid; die Außenepidermis der Hüllblätter bleibt vorwiegend diploid und tetraploid, einzelne Zellen werden oktoploid. Während der Vergrößerung der Spatha-Innenepidermis durch endomitotisches Wachstum vergrößert sich die Subepidermis vorwiegend durch Teilungswachstum; erst gegen den Abschluß ihrer Entwicklung erfährt sie eine mäßige endomitotische Polyploidisierung (bis schätzungsweise 8n). Ebenso wie in der Epidermis treten in ihr vereinzelt spontane tetraploide Mitosen mit Diplochromosomen auf.

Die Endomitosetätigkeit in der Innenepidermis der Spatha ist sehr intensiv: bei verschiedenen Pflanzen und in verschiedenen Entwicklungsstadien befinden sich 12—13% der Kerne in mittleren Endomitose-

phasen. — In bezug auf die Endomitoseschritte herrscht im großen und ganzen Synchronie.

Behandlung mit wäßrigem KCN und NH_4Cl führt in einem bestimmten, engen, je nach Gewebe etwas verschiedenen Konzentrationsbereich eine gleichmäßige und feine Verteilung des Chromatins herbei, wobei die verschiedenen Sorten von Heterochromatin ungleich rasch reagieren.

Der Zusammenhang zwischen den Homologen der ersten meiotischen Metaphase wird durch Doppelbindungen hergestellt.

Literatur.

ALFERT, M., and H. SWIFT: Nuclear DNA constancy: a critical evaluation of some exceptions reported by LISON and PASTEELS. Exper. Cell Res. **5**, 455 (1953). CARNIEL, K.: Das Verhalten der Kerne im Tapetum der Angiospermen mit besonderer Berücksichtigung von Endomitosen und sogenannten Endomitosen. Österr. Bot. Z. **99**, 318 (1952). — Endomitosen im zellulär-einkernigen Tapetum. Österr. Bot. Z. **1954**. — D'AMATO, F.: New evidence of endopolyploidy in differentiated plant tissues. Caryologia (Pisa) **4**, 121 (1952). — DARLINGTON, C. D.: The cytological theory of inheritance in Oenothera. J. Genet. **24**, 405 (1931). — Recent advances in cytology. London 1937. — DEUFEL, J.: Zytologische Untersuchungen an sezernierenden Zellen. Naturwiss. **41**, 41 (1954). — DOLEŽAL, R., u. E. TSCHERMAK-WOESS: Verhalten von Eu- und Heterochromatin und interphasisches Kernwachstum bei Rhoeo discolor; Vergleich von Mitose und Endomitose. Österr. Bot. Z. (im Druck). — DUNCAN, R. E., and P. S. WOODS: Some cytological aspects of antagonism in synthesis of nucleic acid. Chromosoma **6**, 45 (1953). — FENZL, E., u. E. TSCHERMAK-WOESS: Untersuchungen zur karyologischen Anatomie der Achse der Angiospermen. Österr. Bot. Z. **101**, 140 (1954). — GEITLER, L.: Über das Wachstum von Chromozentrenkernen und zweierlei Heterochromatin bei Blütenpflanzen. Z. Zellforsch. **28**, 133 (1938). — Das Wachstum des Zellkerns in tierischen und pflanzlichen Geweben. Erg. Biol. **18**, 1 (1941). — Ergebnisse und Probleme der Endomitoseforschung. Österr. Bot. Z. **95**, 277 (1948). — Notizen zur endomitotischen Polyploidisierung in Trichocyten und Elaiosomen sowie über Kernstrukturen bei Gagea lutea. Chromosoma **3**, 271 (1948/50). — Endomitose und endomitotische Polyploidisierung. Protoplasmatologia **1953**. — GRAFL, I.: Kernwachstum durch Chromosomenvermehrung als regelmäßiger Vorgang bei der pflanzlichen Gewebedifferenzierung. Chromosoma **1**, 265 (1939). — Cytologische Untersuchungen an Sauromatum guttatum. Österr. Bot. Z. **89**, 81 (1940). — GRUNDMANN, E., u. H. MARQUARDT: Untersuchungen an Interphasekernen des Wurzelmeristems von Vicia faba. I. Mitt. Desoxyribosenukleinsäure-ehalt und Größe der Kerne. Chromosoma **6**, 115 (1953). — HOLZER, K.: Untersuchungen zur karyologischen Anatomie der Wurzel. Österr. Bot. Z. **99**, 118 (1952). — HUSKINS, C. L., and L. M. STEINITZ: The nucleus in differentiation and development. I. u. II. J. Hered. **39**, 34, 66 (1948). KUWADA, Y., N. SHINKE u. G. OURA: Artificial uncoiling of the chromonema spirals as a method of investigation of the chromosome structure. Z. wiss. Mikrosk. **55**, 8 (1938). — KUWADA, Y., N. SINKE and Z. NAKAZAWA: The hydration and dehydration phenomena in mitosis. II. A consideration of the spiral stage with the results of experiments and observation. Cytologia **9**, 393 (1938). — MECHELKE, F.: Die Entstehung der polyploiden Zellkerne des Antherentapetums von Antirrhinum majus L. Chromosoma **5**, 246 (1953). — OEHLKERS, F.: Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. I. Z. Bot. **29**, 1 (1935). — PATAU, K., u. H. SWIFT: The DNA-content (Feulgen) of nuclei during mitosis in a root tip of onion. Chromosoma **61**,

49 (1953). — Pelc, S. R., and A. Howard: Chromosome metabolism as shown by autoradiographs. Exper. Cell Res. Suppl. **2**, 269 (1952). — Ris, H., u. A. E. Mirsky: Quantitative cytochemical determination of desoxyribosenucleic acid with the Feulgen nucleal reaction. J. Gen. Physiol. **33**, 125 (1949). — Straub, J.: Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. II. Z. Bot. **30**, 1 (1936). — Swift, H. H.: The desoxyribose nucleic acid content of animal nuclei. Physiol. Zool. **23**, 169 (1950a). — The constancy of desoxyribose nucleic acid in plant nuclei. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **36**, 643 (1950b). — Taylor, J. H.: Autoradiographic detection of incorporation of P^{32} into chromosomes during meiosis and mitosis. Exper. Cell Res. **4**, 164 (1953). — Tschermak-Woess, E., u. G. Hasitschka: Veränderungen der Kernstruktur während der Endomitose, rhythmisches Kernwachstum und verschiedenes Heterochromatin bei Angiospermen. Chromosoma **5**, 574 (1953). — Über die endomitotische Polyploidisierung im Zuge der Differenzierung von Trichomen und Trichocyten bei Angiospermen. Österr. Bot. Z. **101**, 79 (1954). — Virkki, N.: Versuch einer Kernanalyse bei den somatischen Hodenzellen der Aphodius-Arten (Coleoptera, Scarabaeidae). Chromosoma **6**, 1 (1953).

Frau Dr. Elisabeth Tschermak-Woess,
Botanisches Institut der Universität, Wien 40, Rennweg **14**.

Planta, Bd. 44, S. 532—542 (1954).

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Bonn.

EIN BEITRAG ZUR KENNTNIS DER KALLOSE.

Von

WALTER ESCHRICH.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. August 1954.)

Einleitung.

Unter den pflanzlichen Membranstoffen hat die Kallose bisher eine verhältnismäßig geringe Beachtung gefunden. Das mag unter anderem damit zusammenhängen, daß sie im Gegensatz zu den viel besser studierten Skeletsubstanzen wie Cellulose, Hemicellulosen, Pectinstoffen und Chitin immer nur vereinzelt und in geringen Mengen auftritt.

Die Ansichten über die chemische Natur der Kallose weichen bei den einzelnen Autoren erheblich voneinander ab. Während NAEGELI (1861) annahm, infolge der Gelbbraunfärbung mit Jod auf ein Eiweiß schließen zu können, glaubte WILHELM (1880), Kallose von der Cellulose ableiten zu müssen, was auch die Meinung anderer Autoren wie JANCZEWSKI (1882) und SYKES (1908) war. ROUSSOW (1882) glaubte wiederum, das Plasma für die Bildung der Kallose verantwortlich machen zu dürfen. Er ersann ein „spezifisches" Eiweißreagens und färbte damit Siebröhrenkallose. Unterstützt wurde er in seiner Meinung durch STRASBURGER (1884), FISCHER (1886) und vor allem MOORE (1891). Vorsichtiger drückte sich RENDLE (1889) aus, wenn er sagte, Kallose entstünde teils aus Cellulose, teils aus Plasma. Auch HILL (1901) unterschied eine primäre und eine sekundäre Kallose, ohne aber auf deren Herkunft einzugehen. Schließlich sei auch die Ansicht GARDINERS (1885) erwähnt, der Kallose als Stärkeschleim bezeichnete.

Die ersten chemischen Analysen wurden mit Pilzgewebe ausgeführt. So bekam WINTERSTEIN (1893) bei der Hydrolyse mit Schwefelsäure Glucose, enthielt sich aber der Behauptung, Kallose verarbeitet zu haben. MANGIN (1894) fand unter den gleichen Bedingungen Galaktose und Rhamnose und bezeichnete diese Zucker als Grundbausteine der Kallose. 1910 wiederholte MANGIN seine Untersuchungen und erhielt bei der Hydrolyse nun ausschließlich Glucose als Bauelement der Kallose. Die Kallosenatur des Pilzmycels stellte MANGIN mit relativ unspezifischen Farbreaktionen fest. Er bezeichnete eine große Anzahl von Farbstoffen der Benzidinreihe und der Triphenylmethangruppe als Kallosereagentien. Anilinblau und Corallin (Rosolsäure) färbten seiner Meinung nach neben Kallose auch Cellulose. Als Analysenmaterial diente MANGIN (1910) das Mycel von *Bornetina Corium*, einem Wurzelparasiten von *Vitis*. Die Hyphen zeichneten sich durch besonders dicke Membranen aus. MANGIN gelang es, den Pilz auf künstlichem Substrat

zu züchten und somit Verunreinigungen des Bodens auszuschließen. Die gereinigte Ausgangssubstanz war unlöslich in Cuoxam (Kupferoxydammoniak); ihre Elementaranalyse ließ auf einen polymeren Zucker schließen. Das mit konzentrierter Schwefelsäure gewonnene Hydrolysat konnte zu einem Osazon verarbeitet werden, das den Schmelzpunkt des Glucosazons zeigte. MANGIN stellte fest, daß diese Kallose ein aus Glucose aufgebautes Polysaccharid ist und bezeichnete sie als eine der Grundsubstanzen („substance fondamentale", MANGIN 1890) der Pilzmembran. Er bezog das Analysenergebnis auf alle anderen Kallosevorkommen.

Zu diesen gekürzt wiedergegebenen Befunden MANGINs ist zu sagen, daß ein Unterschied zur Cellulose nur in der Unlöslichkeit in Cuoxam besteht. Die radikale Hydrolyse mit konzentrierter Schwefelsäure hätte auch bei Cellulose als Ausgangssubstanz Glucose geliefert.

Kallose wird heute mit Resorzinblau, Anilinblau und Corallin-Soda im Gewebe nachgewiesen. Alle auf diese Weise festgestellten Kallosevorkommen sind jedoch auf bestimmte Gewebe oder Zellen, ja, eigentlich nur auf bestimmte Orte in diesen Zellen beschränkt. Dies trifft zu bei den Kallosepolstern der Siebröhren von Phanerogamen, Pteridophyten und Algen (OLIVER 1887), bei den Pollenschläuchen (MANGIN 1889; JOST 1907), bei Haaren von Boraginaceen (MANGIN 1892), *Geranium molle* (MANGIN 1892), *Osmunda* und *Blechnum* (GARDINER und ITO 1887), bei den Sporangien der Mucorineen (MANGIN 1890), bei den Schlauchgefäßen („laticiferous cells") von *Allium cepa* (RENDLE 1899) und bei den Cystolithen der Urticales (MANGIN 1892). Die Kallose tritt hierbei stets in Gestalt von Belägen, Pfropfen oder Tröpfchen mit klarer Begrenzung auf, und zwar anscheinend an Orten mit reger Stoffbewegung. Demgegenüber ist die von MANGIN untersuchte Kallose mit den sonstigen Bestandteilen der Pilzzellmembran innig vermischt, sie entbehrt einer klar umrissenen Form und ist erst nach Vorbehandlung mit Säuren tingierbar.

Es erscheint deshalb notwendig, auf die begriffliche Trennung hinzuweisen, die SCHMIDT (1917) zwischen „Pilzkallose" und „Siebröhrenkallose" durchführte, wobei unter „Siebröhrenkallose" alle oben aufgezählten Vorkommen zusammenzufassen sind.

Völlig unentschieden ist bisher die Frage, inwieweit die bei einer „Pilzkallose" gefundenen Ergebnisse von MANGIN sich auf die „Siebröhrenkallose" übertragen lassen. Da erwartungsgemäß die Reindarstellung von Siebröhrenkallose im engeren Sinne, d. h. also der Kallosepolster von Siebröhren, auf große Schwierigkeiten stieß, versuchte ich durch Analyse der Kallose von *Ficus*-Cystolithen einen Beitrag zur Lösung dieser Frage zu liefern[1].

[1] Der Direktion des Botanischen Gartens der Universität Bonn danke ich für die freundliche Überlassung des Pflanzenmaterials. Meinem Institutsdirektor, Herrn Prof. Dr. M. STEINER, bin ich für vielerlei Anregungen und für die Bereitstellung aller Institutsmittel zu großem Dank verpflichtet.

1. Gewinnung der Cystolithen.

Zur Darstellung der Kallose benutzte ich die Cystolithen aus den Blättern von *Ficus triangularis* und *Ficus elastica*. Die von den Mittelrippen befreiten und gewaschenen Blattspreiten wurden bei 70° getrocknet, zerrieben und nach nochmaliger scharfer Trocknung im Starmix gepulvert und durch Sieb Nr. 6 DAB 6 (Maschenweite etwa 0,15 mm) geschüttelt. Dem staubfeinen Blattpulver wurde mit Äthanol das Chlorophyll weitgehend entzogen. Ein Teil der trockenen Cystolithen enthält Lufträume, die sie befähigen, auf Wasser zu schwimmen oder sich schwebend zu halten. Um diese Lufträume zu beseitigen, wurde die Isolierung mit Alkohol durchgeführt, was allerdings eine Verunreinigung der Cystolithen mit Chlorophyll und anderen alkohollöslichen Substanzen zur Folge hat. Die Cystolithen setzen sich in der Suspension des Blattpulvers in Alkohol als schwerste Elemente rasch am Boden des Gefäßes ab und können durch kreisende Bewegung in der Mitte des Gefäßbodens gesammelt werden. Mit geeigneten, nicht zu engen Pipetten lassen sich aus kleinen Portionen der Suspension mit Hilfe eines untergelegten Spiegels die Cystolithen herausheben. Die grünlich-weißen Cystolithen sind mit bloßem Auge zu erkennen und können mit einiger Geduld annähernd quantitativ isoliert werden. Aus 3 g trockenem Blattpulver von *Ficus elastica* ließen sich 0,017 g Cystolithen isolieren; das sind 0,56 % der Blatttrockenmasse. Die letzte Reinigung der Cystolithen geschah in Blockschälchen, woraus die verunreinigenden Blattfragmente über der Cystolithenmasse abpipettiert wurden. Abb. 1 gibt Aufschluß über den Reinheitsgrad derartig isolierter Cystolithen. Die in sehr geringer Menge vorhandenen anorganischen Fremd-Bestandteile des Blattpulvers, die hauptsächlich aus Schmutzpartikeln von der Blattoberfläche herrührten, wurden mit einer schwach eingefetteten Nadel unter der Präparierlupe entfernt. Bei qualitativen Untersuchungen ließen sich, nach Weglösen des Calciumcarbonats mit Salzsäure-Alkohol, die nunmehr leichten Cystolithen von den schwereren Verunreinigungen abheben. Die Cystolithen wurden trocken oder unter Alkohol aufbewahrt.

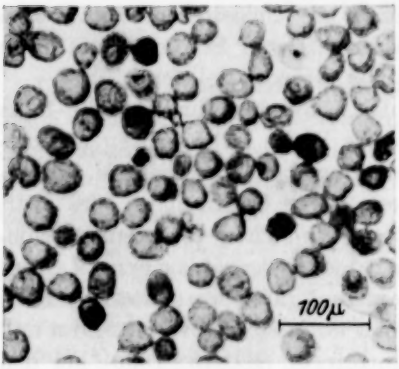

Abb. 1. Isolierte Cystolithen aus Blättern von *Ficus triangularis*.

2. Zusammensetzung der Cystolithen.

Die mikroskopische Betrachtung eines *Ficus*-Cystolithen zeigt ein traubiges Gebilde, in das ein kurzes Stielchen eingelassen ist. Der

Abbruch bei der Zerkleinerung des Materials erfolgt zwischen Epidermis-Außenwand und Stiel des Cystolithen. Verdünnte Resorcinblaulösung (Eschrich 1953) färbt die gesamte Oberfläche des Traubenkörpers leuchtend blau. Der Stiel wird nicht gefärbt. Löst man mit stark verdünnter Salzsäure in Alkohol das Calciumcarbonat des Traubenkörpers weg, so bleibt ein Gerüts von der Größe des ursprünglichen Cystolithen zurück. Nach Neutralisation der salzsauren Lösung mit verdünntem Ammoniak läßt sich auch an diesem Cystolithengerüst die Resorcinblaufärbung hervorrufen. Bei der Behandlung des Gerüstes mit Chlorzinkjod färbt sich nur der zentrale Teil des Cystolithen mit vielen zarten radialen Strahlen, die jedoch weit vor der Peripherie enden, violett (Abb. 2). Alles andere erscheint in gelber Farbe. Der Stiel bleibt ungefärbt. Die violette Substanz dürfte Cellulose, die gelbe Kallose sein. Bei der Veraschung des Gerüstes bleibt nur das Stielchen übrig, das in geschmolzenem Phenol rosa erscheint (Abb. 3). Das Röntgendiagramm des entkalkten Cystolithenpulvers zeigt neben breiten, wenig charakteristischen Interferenzen, die ich der Cellulose zuordnen möchte, die Interferenzen des Tiefquarzes. Das Stielchen besteht also aus kristallisiertem Siliciumdioxyd. Für die Kallose als typisch zu bezeichnende Röntgeninterferenzen konnten mit der zur Verfügung stehenden Kamera nicht festgestellt werden[1].

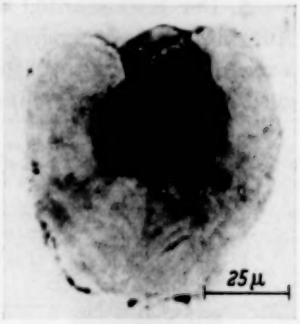

Abb. 2. Entkalkter Cystolith *(Ficus triangularis)* mit Chlorzinkjod gefärbt. Das Stielchen erscheint dunkel, weil es von dem gefärbten Cellulosekern überdeckt ist.

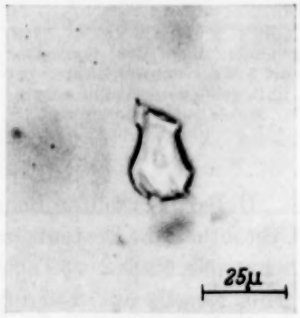

Abb. 3. Cystolithenstielchen nach dem Ausglühen.

Die mengenmäßige Zusammensetzung der Cystolithensubstanz (Calciumcarbonat, Kallose, Cellulose, Siliciumdioxyd) wurde auf folgende Weise ermittelt:

In gereinigte, geglühte und gewogene Porzellanfiltertiegel (A 1) wurden die mit Alkohol gewaschenen Cystolithen eingewogen. Die Behandlung mit Salzsäure-Alkohol (1 Teil 1 n HCl, 1 Teil 95%iges Äthanol) dauerte 3—5 min. Darauf wurde mit Wasser ausgewaschen. Nach der Prüfung auf Abwesenheit von Cl^- und Ca^{++} in der Waschflüssigkeit

[1] Herrn Dozenten Dr. Heinz Krebs danke ich für die Ermöglichung der Röntgenuntersuchungen, Fräulein Dr. Ilse Pakulla danke ich für die Herstellung der Aufnahmen.

mit Silbernitrat und Schwefelsäure wurde bei 80° C getrocknet und gewogen. Aus dem Gewichtsverlust in Salzsäure ergab sich ein sehr konstanter Wert von 91,5%[1] für das Calciumcarbonat (Tabelle 1, Nr. 2) bei beiden untersuchten *Ficus*-Arten. Die entkalkten Cystolithen wurden zur Ermittlung des Kalloseanteils auf zweierlei Arten weiterbehandelt:

A. Der Kalloseanteil wurde mit 2%iger Schwefelsäure bei 120° C im Autoklaven hydrolysiert. Nach einer Hydrolysezeit von 30—35 min konnte an den Cystolithen keine Resorcinblaufärbung mehr hervorgerufen werden. Das mikroskopische Bild zeigte nur mehr den Stiel mit dem Cellulosekern und den radialen Strahlen (Abb. 4). Dieser Restkörper färbte sich, der Stiel ausgenommen, mit Chlorzinkjod augenblicklich dunkelviolett, was auf das Vorhandensein reiner Cellulose schließen läßt. Das schwefelsaure Hydrolysat wurde mit Bariumcarbonat neutralisiert und nach der später folgenden Beschreibung als „Kallosefraktion" aufgearbeitet.

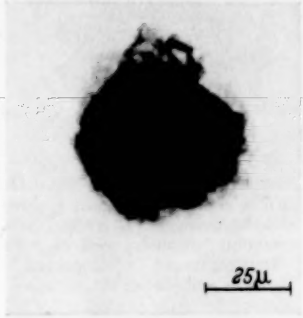

Abb. 4. Cystolith *(Ficus triangularis)* nach der Hydrolyse mit 2%iger Schwefelsäure. Der übriggebliebene Cellulosekern wurde mit Chlorzinkjod angefärbt.

Nach der Hydrolyse ergab die Wägung der getrockneten Restsubstanz eine Gewichtsabnahme um 4,5% (Tabelle 1, Nr. 3). Nach Glühen und Wägen der Tiegel blieb ein Restgewicht von 1,8% (Tabelle 1, Nr. 5) für die anorganischen Bestandteile. Die Cellulosefraktion müßte also mit 2,2% (Tabelle 1, Nr. 4) veranschlagt werden.

B. Bei der zweiten Behandlungsweise wurde nach der Entkalkung der Cystolithen die Restsubstanz mit frisch bereitetem Cuoxam drei Tage lang behandelt. Nach 2—3 Tagen fiel bei der Kontrollsubstanz die Chlorzinkjodprobe negativ aus. Der sorgfältig mit etwa 1%iger Salzsäure und Alkohol gewaschene Rückstand wies nach der Trocknung einen höheren Gewichtsverlust auf, als ihn die nach Methode A gewonnene Cellulosefraktion zeigte.

Die Differenz mag auf die leichte Quellbarkeit der Kallose in konzentriertem Ammoniak zurückgeführt werden. Bei der Bereitung der Cuoxam-Lösung läßt sich ein Überschuß an Ammoniak nicht vermeiden; es ist deshalb möglich, daß ein Teil der Kallose in stark gequollenem Zustand mit durch das Filter läuft. Der Prozentsatz des Cellulosegewichtes belief sich bei dieser Methode auf durchschnittlich 3,1%. Der geglühte Rückstand machte wiederum 1,8% aus, für die Kallosefraktion blieben in diesem Falle nur 3,6 Gewichtsprozente.

[1] Es handelt sich hier und in der Folge um den mittleren Prozentsatz, der aus vier herausgegriffenen Proben ermittelt wurde (vgl. Tabelle 1).

Die nebenstehende Tabelle 1 gibt unter den Nummern 1—5 die Gewichte und Gewichtsprozente der Cystolithenbestandteile wieder, zu deren Ermittlung ausschließlich die Methode A angewandt wurde.

3. *Aufarbeitung der Kallosefraktion.*

a) Qualitative Untersuchung. Das Hydrolysat der Kallosefraktion wurde zunächst qualitativ untersucht. Bei der papierchromatographischen Analyse wurde das zu einem farblosen Sirup eingedickte Hydrolysat auf den Papiersorten Whatman Nr. 1 und Schleicher & Schüll Nr. 2043b aufsteigend entwickelt. Als Lösungsmittel diente Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 1). Der einzige auftretende Fleck hatte auf Whatman-Papier den R_f-Wert 0,18, er reagierte wie ein reduzierender Zucker mit Anilinphthalat, m-Phenylendiamin, Triphenyltetrazoliumchlorid und Benzidinacetat (CRAMER 1954; DEDONDER 1942). Er verhielt sich also wie Glucose. Nachweisreaktionen auf Aminosäuren, nicht reduzierende

Tabelle 1. *Zusammensetzung der Cystolithensubstanz.*
[Errechnete Werte (Nr. 4, 7, 8, 9) sind kursiv gedruckt.]

	Fraktion	Probe 1		Probe 2		Probe 3		Probe 4		Mittelwert
		mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	%
1.	Cystolithen (total)	105,93	*100*	108,79	*100*	103,20	*100*	120,62	*100*	*100*
2.	Calciumcarbonat	96,46	91,6	99,73	91,6	94,22	91,3	110,13	91,3	91,5
3.	Kallosefraktion (Hydrolysat)	4,70	4,5	4,63	4,3	4,85	4,7	5,55	4,6	4,5
4.	Cellulosefraktion (nicht hydrolysiert)	*2,9*	*2,1*	*2,46*	*2,3*	*2,17*	*2,1*	*2,77*	*2,3*	*2,2*
5.	Restsubstanz nach Veraschung	1,87	1,8	1,97	1,8	1,96	1,9	2,17	1,8	1,8
6.	Glucose der Kallosefraktion (Nr. 3)	3,5	3,3	3,1	2,9	3,8	3,7	4,0	3,3	3,3
7.	Auf Polysaccharid umgerechnet	*3,2*	*3,1*	*2,8*	*2,6*	*3,4*	*3,3*	*3,6*	*3,0*	*3,0*
8.	Chlorophyll bzw. alkohol- und ätherlösliche Verunreinigungen (nach Tabelle 2 berechnet)		*1,3*		*1,3*		*1,4*		*1,4*	*1,35*
9.	Kalloseanteil der Kallosefraktion (Nr. 3) (nach Tabelle 2 berechnet)		*3,2*		*3,0*		*3,3*		*3,2*	*3,2*
10.	Differenz zwischen Kallose (Nr. 9) und Glucose (Nr. 7)		*0,1*		*0,4*		*0,0*		*0,2*	*0,17*

Zucker und Aminozucker mit Ninhydrin, Naphthoresorcin und p-Dimethylaminobenzaldehyd (CRAMER 1954; BLOCK 1952) fielen negativ aus.

Mit einer größeren Menge des Hydrolysates wurde das Osazon hergestellt. Nach Umkristallisieren aus Pyridin wurde ein Schmelzpunkt von 207—208° C gefunden, das zum Vergleich hergestellte reine Glucosazon schmolz bei 208° C. Die Schmelzpunktsbestimmung wurde mit Hilfe des Heiztischmikroskops nach KOFLER durchgeführt. Wegen der sehr geringen Substanzmengen war allerdings eine Gewinnung der Kallose-Glucose als kristallisierte Substanz nicht möglich. Die Messung der optischen Drehung des Hydrolysates ergab jedoch einen starken Rechtswert. Die qualitative Untersuchung des Säure-Hydrolysates der Cystolithenkallose ergibt also als einzige definierte Substanz d-Glucose.

b) Quantitative Bestimmung. Durch eine quantitative Glucosebestimmung war zu prüfen, ob bei der im vorigen Abschnitt beschriebenen qualitativen Untersuchung tatsächlich die Produkte des hydrolytischen Abbaues der Kallose restlos erfaßt worden waren. Zu diesem Zweck wurde das mit Bariumcarbonatbrei neutralisierte Hydrolysat filtriert und gewaschen. Die in dem Filtrat enthaltene Glucosemenge wurde mit der Mikrobestimmung von reduzierenden Zuckern nach BERTRAND (RONA 1926) ermittelt. Die gefundenen Glucosewerte ergaben niemals mehr als 3,3% der Cystolithensubstanz, das sind 70% der durch Wägung bestimmten Kallosefraktion. Selbst bei Annahme großer Wägungs- oder Bestimmungsfehler war es offensichtlich, daß noch weitere Substanzen in dem Hydrolysat der Kallose vorhanden sein mußten. Qualitative Phosphornachweise fielen negativ aus. Die Gesamtstickstoffbestimmung mit dem Mikro-KJELDAHL-Verfahren (LIEB 1931) ergab jedoch bis zu 3,2% Stickstoff, also verhältnismäßig hohe Stickstoffwerte. Ich benutzte zunächst für die Stickstoffbestimmung lediglich entkalkte Cystolithen. Da sich aber auf papierchromatographischem Wege unter den oben angeführten Bedingungen keine organischen stickstoffhaltigen Substanzen nachweisen ließen, lag die Vermutung nahe, daß der gefundene Stickstoff von nicht ausgewaschenem Chlorophyll herrühren könnte. Um den Anteil an verunreinigendem Chlorophyll und eventuell vorhandenen anderen alkohollöslichen Verunreinigungen zu bestimmen, wurden entkalkte Cystolithen, die im Achatmörser zu feinstem Pulver zerrieben waren, in Filterpapiertütchen (HEIDE 1939) eingewogen. Die Tütchen waren zuvor 2 Std mit Alkohol und 2 Std mit Äther in der SOXHLET-Apparatur extrahiert worden. Nach je 3 Std Extraktion mit Alkohol und Äther im SOXHLET-Apparat, konnte ich eine Gewichtsabnahme des Cystolithenpulvers um 41,2% feststellen (Tabelle 2).

Tabelle 2. *Alkohol-Ätherextraktion entkalkten Cystolithenpulvers.* (Proben 1 und 2 *Ficus triangularis*, Probe 3: *Ficus elastica*.)

		1		2		3		Mittelwert
		mg	%	mg	%	mg	%	%
1.	Vor der Extraktion . .	4,5	(100)	7,7	(100)	18,2	(100)	(100)
2.	Nach der Extraktion .	2,3	51	4,7	63,6	11,2	62	58,8
3.	Die Gewichtsabnahme beträgt demnach . .		49		36,4		38	41,2

Die KJELDAHL-Bestimmung des extrahierten Cystolithenpulvers ergab stets weniger als 0,9% Stickstoff. Bezieht man nun die vor der Extraktion gefundenen 3,2% Stickstoff auf Chlorophyll, das etwa 7% Stickstoff enthält, so ergeben sich 45% Chlorophyll. Dieser Chlorophyllanteil entspricht also ziemlich genau dem verunreinigenden Bestandteil von 41,2%, der mit Alkohol und Äther extrahiert wurde. Eine kurze Behandlung der Cystolithen mit kalter 5%iger KOH vor der Extraktion hatte keinen Einfluß auf den Stickstoffgehalt. Vorhandene Plasmaspuren, die den Cystolithen angehaftet haben könnten, waren also auf diese Weise, wie auf dem Chromatogramm, nicht nachweisbar. Die Tabelle 1 kann somit durch den Zusatz von 1,35% alkohollöslicher Verunreinigungen vervollständigt werden (Tabelle 1, Nr. 18).

Zur Gegenprobe wurde die extrahierte Cystolithensubstanz in Filtertiegeln eingewogen und unter den gleichen Bedingungen wie oben beschrieben der Hydrolyse mit 2%iger Schwefelsäure unterworfen. Der Anteil der Kallosefraktion ergab sich aus dem Gewichtsverlust. Die Glucosemenge des Hydrolysates war bei 2 Proben wenig größer, bei 4 Proben etwa gleich der Kallosemenge. Der in Tabelle 1 Nr. 9 errechnete wahre Kalloseanteil der „Kallosefraktion" entspricht in etwa den Ergebnissen der quantitativen Glucosebestimmung. Es bleibt noch eine Differenz von 0,17% bestehen. Zur Erklärung könnte man vielleicht Glucoseverluste bei der Bariumfällung im Hydrolysat oder eine nicht ganz vollständige Eliminierung der Verunreinigungen anführen.

Auf Grund der qualitativen und quantitativen Kalloseuntersuchungen besteht also Grund zur Annahme, daß die Cystolithenkallose nur aus d-Glucose aufgebaut ist.

4. Mikrobieller Abbau der Kallose.

Im Laufe der Untersuchungen konnte ich beobachten, daß isolierte getrocknete Cystolithen nach mehreren Wochen zusammenklebten und schließlich eine klebrige Masse bildeten, die aus dem Cystolithenkörper

austrat. Mit Alkohol ließ sich dieser Schleim zu einer zähen Masse ausfällen, die mit Resorcinblau noch die für Kallose typische Blaufärbung ergab. In Wasser dagegen löste sich das schleimige Produkt schnell und vollständig auf. In dieser Lösung konnte d-Glucose durch die optische Drehung, durch Papierchromatographie und durch das Osazon nachgewiesen werden. Die Vermutung lag nahe, daß die wasserunlösliche Kallose durch mikrobiellen Abbau teilweise hydrolysiert und hygroskopisch wurde. Es ist anzunehmen, daß die Resorcinblaufärbung auf Kallosen höheren und niederen Polymerisationsgrades anspricht.

Bei einer Rekonstruktion des mikrobiellen Abbaues konnte ich feststellen, daß mit Wasser angefeuchtete und in Toluol-Atmosphäre steril aufbewahrte Cystolithen keinem Kalloseabbau unterliegen. Lediglich die Kalkeinlagerungen bilden an den Warzen der Cystolithenoberfläche blasenförmige Ausblühungen, die abbröckeln und schließlich in Form kleiner Kügelchen außerhalb des Cystolithenkörpers liegen. Die Kallose färbte sich normal, Glucose konnte in der Suspension papierchromatographisch nicht nachgewiesen werden. Die in Zimmerluft aufbewahrten angefeuchteten Cystolithen zeigten die gleiche Kalkverlagerung, verpilzten jedoch nach kurzer Zeit und bildeten das Substrat für kurze stäbchenförmige Bakterien. Nach 6—8 Wochen begann die Kallose schleimig zu werden und aus dem cellulosischen Cystolithengerüst auszufließen. Diese Kallose löste sich bei Zugabe von Wasser sofort, mit wenig Resorcinblau färbte sie sich genau so wie die wasserunlösliche Kallose.

Besprechung der Ergebnisse.

Die chemische Analyse der Cystolithenkallose stimmt mit dem Resultat, das MANGIN bei der Untersuchung der Pilzkallose erhielt, überein. Die Cystolithen- wie die Pilzkallose enthält als Grundbaustein d-Glucosen. Da Kallose in Alkohol, Äther und Wasser unlöslich ist, sind Substanzen, die mit diesen Lösungsmitteln aus der Kallose extrahiert werden können, lediglich als Verunreinigungen zu betrachten. Kallose ist demnach ein Polysaccharid, das nur aus d-Glucose aufgebaut wird. Es ist anzunehmen, daß dieses für die Pilzkallose und die Cystolithenkallose feststehende Analysenergebnis auch für andere Kallosevorkommen zutreffen wird. Die physikalischen Eigenschaften der verschiedenen Kallosen werden dadurch allerdings noch nicht erklärt.

Die Beantwortung der Frage nach dem Grade und der Art der Polymerisation wird auf weitere Untersuchungen warten müssen, die jedoch infolge der geringen und schlecht zu gewinnenden Substanzmengen große Schwierigkeiten bereiten werden. Gewisse Unterschiede im Polymerisationsgrade bzw. in der Art der Zusammensetzung scheinen bei den verschiedenen Kallosen jedoch zu bestehen. Als Anzeiger des Vorhandenseins von Kallose stehen uns leider nur Färbungen, vor allem

die Resorcinblaufärbung, zur Verfügung. Beim Gebrauch dieses Reagens müssen wir feststellen, daß nicht nur die bekannten Vorkommen, wie Siebröhrenkallose, Pollenschlauchkallose, Cystolithenkallose usw. angefärbt werden; auch andere Bauelemente der Pflanzen zeigen die gleiche Reaktion. Die als Cellulosebalken beschriebenen Wandaussteifungen bei *Caulerpa prolifera* konnte ich schnell und klar anfärben, ja selbst lignifizierte Fasern und Gefäßwandverdickungen erscheinen — wenn auch erst nach einiger Zeit — schwach hellblau. Vermutlich ist auch die Pilzkallose von MANGIN diesen Kallosevorkommen in Zellmembranen zuzuordnen. Andererseits ist die durch mikrobiellen Abbau veränderte schleimige Cystolithenkallose der gleichen Färbung zugängig.

Die aufgezählte Reihe der Kallosen variiert in Konsistenz und Gestalt, aber auch ihre Löslichkeit ist unterschiedlich. Während sich die Pilzkallose nur nach Vorbehandlung mit Säuren in Alkalien löst, ist die Siebröhrenkallose ohne weiteres in 3—5%iger Alkalilauge löslich. Die mikrobiell abgebaute Cystolithenkallose aber löst sich bereits in Wasser. Zur Hydrolyse der Pilzkallose benutzte MANGIN konzentrierte Schwefelsäure. Cystolithenkallose läßt sich schon in 2%iger heißer Schwefelsäure hydrolysieren.

Zusammenfassung.

Die Cystolithen von *Ficus elastica* und *Ficus triangularis* wurden isoliert. Sie enthalten 3,2% Kallose. Die Kallose läßt sich mit 2%iger Schwefelsäure bei 120° C hydrolysieren. Dabei entsteht d-Glucose.

Die Cystolithenkallose ist in Wasser nicht löslich, kann aber durch Mikroorganismen in wasserlösliche Produkte umgewandelt werden. Resorcinblau ruft an beiden „Kallosen" Blaufärbung hervor. Die Cystolithenkallose ist ein aus d-Glucose aufgebautes Polysaccharid.

Literatur.

BLOCK, R. J.: Paper chromatography. New York: Academic Press 1952. — CRAMER, F.: Papierchromatographie, 3. Aufl. Weinheim: Verlag Chemie 1954. — DEDONDER, R.: Glucides et composés voisins. Bull. Soc. chim. France **1952**, 874—883. — ESCHRICH, W.: Beiträge zur Kenntnis der Wundsiebröhrenentwicklung bei *Impatiens holsti*. Planta (Berl.) **43**, 37—74 (1953). — FISCHER, A.: Neue Beiträge zur Kenntnis der Siebröhren. Ber. math.-physik. Kl. kgl. sächs. Ges. Wiss. **1886**. — GARDINER, W.: Observations on the constitution of callus. Proc. Cambridge Philos. Soc. **5**, 320 (1885). — GARDINER, W., and T. ITO: On the structure of mucilage-secreting cells of *Blechnum occidentale* and *Osmunda regalis*. Ann. of Bot. **1**, 33—54 (1887). — HEIDE, S.: Zur Physiologie und Cytologie der Fettbildung bei *Endomyces vernalis*, mit einem Beitrag zur Methodik der quantitativen Bestimmung kleinster Fettmengen. Arch. Mikrobiol. **10**, 135 (1939). — HILL, A. W.: The histology of the sieve-tubes of *Pinus*. Ann. of Bot. **15**, 575—611 (1901). — JANCZEWSKI, A. DE: Mémoires sur les tubes criblés. Ann. Sci. natur. Bot. **14**, Nr. 2/3 (1882). — JOST, L.: Über die Selbststerilität einiger Blüten. Bot. Ztg **65**, 77—117 (1907). — LIEB, H.: KLEINS Handbuch der Pflanzenanalyse,

Bd. 1. Wien: Springer 1931. — MANGIN, L.: Observations sur la membrane du grain de pollen mûr. Bull. Soc. bot. France **36**, 274—284 (1889). — Sur la callose nouvelle substance fondamentale éxistant dans la membrane. C. r. Acad. Sci. Paris **110**, 644—647 (1890). — Sur la constitution des cystolithes et des membranes incrustées de carbonat de chaux. C. r. Acad. Sci. Paris **115**, 260—261 (1892). — Observations sur la présence de la callose chez les phanérogames. Bull. Soc. bot. France **39**, 260—267 (1892). — Sur la constitution de la membrane chez quelques champignons, en particulière chez les polyporées. Bull. Soc. bot. France **41**, 375—384 (1894). — Nouvelles observations sur la callose. C. r. Acad. Sci. Paris **151**, 279—283 (1910). — MOORE, S.: An investigation into the true nature of callus: The vegetable-marrow and *Ballia callitricha* (Ag.). J. Linnean Soc. Bot. **27**, 501—526 (1891). — NAEGELI, C. W.: Über die Siebröhren von *Cucurbita*. Botanische Mitt. Sitzgsber. k. Bayer. Akad. Wiss. München 1861. — OLIVER, F. W.: On the obliteration of the sieve tubes in Laminarieae. Ann. of Bot. **1**, 95—117 (1887). — RENDLE, A. B.: On the vesicular vessel of Onion. Ann. of Bot. **3**, 169—177 (1889). — RONA, P.: Praktikum der physiologischen Chemie, Teil 1. Berlin: Springer 1926. — ROUSSOW, E.: Sur la structure et le développement des tubes cribreux. Ann. Sci. natur. Bot. **14** Nr. 2/3 (1882). — SCHMIDT, E. W.: Bau und Funktion der Siebröhre der Angiospermen. Jena: Gustav Fischer 1917. — STRASBURGER, E.: Botanisches Praktikum, 1. Aufl. Jena: Gustav Fischer 1884. — SYKES, M. G.: Anatomy and histology of *Macrocystis pyrifera* and *Laminaria saccharina*. Ann. of Bot. **22**, 291—325 (1908). — WILHELM, K.: Beiträge zur Kenntnis des Siebröhrenapparates dicotyler Pflanzen. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1880. — WINTERSTEIN, E.: Zur Kenntnis der Pilzcellulose. Ber. dtsch. bot. Ges. **11**, 441—445 (1893).

Dr. WALTER ESCHRICH, Bonn/Rhein, Meckenheimer Allee 170a,
Pharmakognostisches Institut der Universität.

Aufnahmebedingungen.

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photos.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse im Umfang von im allgemeinen höchstens 1 Seite anzufügen.

Praktikum der Pflanzenanatomie

Von Professor Dr. **R. Biebl,** Wien, und Dr. **H. Germ,** Wien. Mit 261 Textabbildungen. VI, 220 Seiten Gr.-8°. 1950. (W)

Steif geheftet DM 19.50; Ganzleinen DM 22.50

Aus den Besprechungen: Das Werk ist als Hilfsbuch für pflanzenanatomische Übungen gedacht, soll es dem Benützer aber auch im Selbststudium ermöglichen, sich gründliche Kenntnisse vom Bau der Pflanzen zu erwerben. Die Pflanzenzelle, die Gewebe und Organe der Pflanzen werden an Hand zahlreicher Beispiele recht ausführlich behandelt. Für jede der aufgeführten Strukturen werden mehrere günstige Untersuchungsobjekte angegeben; da außerdem die meisten der beschriebenen Objekte leicht zu beschaffen sind, steht das zu untersuchende Material stets zur Verfügung. Die zahlreichen, sehr instruktiven Abbildungen erleichtern die Benützung des Buches. Allein aus ihnen kann sich der Anfänger ein Bild vom mikroskopischen Bau der Pflanzen machen, dem Fortgeschrittenen werden die Abbildungen bei vergleichenden Untersuchungen nützlich sein. Die Beschreibungen der einzelnen Objekte werden durch knappe Angaben über die anzuwendende Untersuchungstechnik ergänzt.

Der Inhalt des Werkes ist übersichtlich gegliedert. Besonders erwähnt werden muß die gute Ausstattung. Das Buch erfüllt die an ein Praktikum der Pflanzenanatomie zu stellenden Anforderungen. Wer es gründlich an Hand selbst angefertigter Präparate durchgearbeitet hat, der hat sich solide Kenntnisse der mikroskopischen Morphologie der Pflanzen erworben — und auch heute noch ist die Morphologie die Grundlage des biologischen Wissens. *„Mikrokosmos"*

SPRINGER-VERLAG / WIEN

Es beginnt zu erscheinen:

Modern Methods of Plant Analysis

Edited by **K. Paech,** Tübingen, **M. V. Tracey,** Rothamsted, Great Britain. In 4 Volumes.

Moderne Methoden der Pflanzenanalyse

Herausgegeben von **K. Paech,** Tübingen, **M. V. Tracey,** Rothamsted, Great Britain. In 4 Bänden. Jeder Band ist einzeln käuflich.

Im Dezember 1954 wird erscheinen:

Zweiter Band:

Bearbeitet von S. A. Barker, D. J. Bell, A. A. Benson, G. Dangschat, W. Franke, L. J. Haynes, F. A. Henglein, E. L. Hirst, M. A. Jermyn, J. K. N. Jones, M. L. Meara, D. F. Meigh, S. L. Ranson, R. Scarisbrick, M. V. Tracey, A. R. Trim, W. J. Whelan, J. Wolf. Mit 48 Abbildungen. XIV, 626 Seiten Gr.-8°. 1954.

Vorbestellpreis gültig bis zum Erscheinen Ganzleinen DM 88.—

Endgültiger Ladenpreis nach Erscheinen Ganzleinen DM 110.—

Bei Verpflichtung zur Abnahme des Gesamtwerkes gilt der Vorbestellpreis auch nach Erscheinen des zweiten Bandes weiter als Subskriptionspreis.

Inhaltsübersicht: Mono- and Oligosaccharides and Acidic Monosaccharide Derivatives. By D. J. Bell, Edinburgh, Great Britain. — Acyclic Sugar Alcohols. By S. A. Barker, Birmingham, Great Britain. — Inosite und verwandte Naturstoffe. Von G. Dangschat, Berlin-Frohnau. — Ascorbinsäure. Von W. Franke, Heidelberg. — Phosphorylated Sugars. By A. A. Benson, Berkeley, USA. — Starch, Glycogen, Fructosans and Similar Polysaccharides. By W. J. Whelan, Bangor, Great Britain. — Cellulose and Hemicelluloses. By M. A. Jermyn, Melbourne, Australia. — Pektine. Von F. A. Henglein, Karlsruhe. — Chitin. By M. V. Tracey, Rothamsted, Great Britain. — The Analysis of Plant Gums and Mucilages. By E. L. Hirst, Edinburgh, Great Britain, and J. K. N. Jones, Kingston, Canada. — Glycosides as a General Group. By A. R. Trim, Trumpington, Great Britain. — Fats and Other Lipids. By M. L. Meara, Liverpool, Great Britain. — Volatile Alcohols, Aldehydes, Ketones and Esters. By D. F. Meigh, Maidstone, Great Britain. — Volatile Acids. By R. Scarisbrick, London, Great Britain. — Nichtflüchtige Mono-, Di- und Tricarbonsäuren. (Unter Ausschluß chromatographischer Methoden.) Von J. Wolf, Karlsruhe. — Non Volatile Mono-, Di- and Tricarboxylic Acids. (Chromatographic and Ion Exchange Methods.) By S. L. Ranson, Newcastle-upon-Tyne, Great Britain. — Lactonés. By L. J. Haynes, Edinburgh, Great Britain.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Diesem Heft liegt je ein Prospekt des Springer-Verlages, Berlin · Göttingen · Heidelberg, und des Springer-Verlages, Wien, bei.

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg.
Printed in Germany.